

# JBSA Newsletter

Vol.6 No.1 April 2016 (No.15)



— Contents —

◇Announcement of the 16th JBSA Annual Conference, 2016.....Koki Kaku .....	1
◇Lecture Report of the 15th JBSA Annual Conference, 2015	
Special Symposium II 2. Ebola Hemorrhagic Fever	
1) Ebola Virus.....Ayato Takada .....	3
4) Hospital Preparedness for Ebola Virus Disease in Japan.....Yasuyuki Kato .....	5
Session II	
Dynamic Characteristics of Transfer of Airborne Particles Due to the Door Opening and Closing between .....	7
a BSL3 Room and Next Door & Solution Contamination Problem.....Yuichi Miura	
Session III	
A Study of Protective Clothing for Biological Hazard -Standard, Protective Performance of Existing Products .....	11
.....Shinsuke Kumagai, Katsuaki Shinohara	
Session V	
1) Confirmation Method of the Inflow Velocity of the Front Work Access Opening of BSC.....Keiichi Ono .....	13
2) Decontamination of Biosafety Cabinet with Chlorine Dioxide.....Miki Shinya .....	16
Session VII	
Biosafety for Laboratory Animal -about Facility and Equipment-.....Kazuya Yoshida .....	21



— 目 次 —

◇第16回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会開催案内	加來浩器	1
◇第15回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会講演報告		
特別シンポジウム II 2. エボラ出血熱		
1) エボラウイルスとは	高田礼人	3
4) エボラ出血熱に対する国内医療機関体制	加藤康幸	5
セッション II		
BSL3 室 扉開閉時の粒子の挙動解析と交叉汚染対策	三浦裕一	7
セッション III		
バイオハザード対策用防護服の現状と課題	熊谷慎介、篠原克明	11
セッション V		
1) BSC 流入風速の日常の確認方法	小野恵一	13
2) 二酸化塩素による安全キャビネットの除染	真家未妃	16
セッション VII		
実験動物のバイオセーフティ—施設・設備について—	吉田一也	21
◇トピックス：アメリカ大陸におけるジカウイルス感染症の流行	西條政幸	24
◇総説：ボルナウイルスとバイオセーフティ	牧野晶子、朝長啓造	26
◇特集：結核		
結核特集について	木ノ本雅通	31
結核の過去と現在	木ノ本雅通	32
結核の検査—バイオセーフティの実際—	御手洗聡	40
結核の診断薬 IGRA とバイオセーフティ	原田登之	45
薬剤耐性結核菌—研究開発の現状と将来—	土井教生	50
BSL3 実験室での結核菌の取り扱い—PPE、技術、消毒滅菌—	山崎利雄	57
結核菌の運搬と管理—関係法規、梱包、保管—	鹿住祐子	62
結核症の治療—HIV 感染症と結核—	永井英明	69
結核菌の写真		74
◇レポート：ポリオウイルス病原体バイオリスク管理に関する WHO 行動計画 (GAP III) と 今後の課題	清水博之	75
◇総会報告		79
◇お知らせ		80

## 第16回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会 開催のご案内（第1報）

早春のころ、学会員各位の皆様には、ますますご清祥のこととお喜び申し上げます。昨今、国内でのデング熱発生、エボラ出血熱・MERS 疑い例へ輸入感染症対策、中南米でのジカウイルス感染症など新興・再興感染症への備えと対応が国民の大きな関心事となってきました。

そこで、第16回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会では、下記の会期、会場において、一般医療施設・検査機関等における感染制御の問題、30年ぶりの高度封じ込め施設（BSL-4）の稼働の現状と今後の課題、2020年の東京オリンピックに関連したバイオテロ対策、有人宇宙飛行や宇宙開発に関わるバイオセーフティの問題など、身近で重要な感染症の話題を幅広くとり上げてみたいと考えております。一般演題も多数募集いたします。皆様のご協力、何卒、よろしくお願い申し上げます。

平成28年4月1日

### 記

- ・テーマ 「多様化するバイオセーフティのこれからの課題」
- ・会期 平成28年11月30日（水）、12月1日（木）
- ・会場 大宮ソニックシティ  
〒330-0854 埼玉県さいたま市大宮区桜木町1-7-5 [https://www.sonic-city.or.jp/?page\\_id=178](https://www.sonic-city.or.jp/?page_id=178)
- ・学会長 加來浩器  
防衛医科大学校 防衛医学研究センター 広域感染症疫学・制御研究部門

### プログラム（案）

- ・11月30日（水）
  - －総会
  - －学会長講演「感染症危機管理の今後の課題（案）」
  - －ワークショップ1「BSL4の現状と展望（案）」
  - －シンポジウム1「医療・検査の現場での感染管理（案）」
  - －教育講演
  - －一般演題
- ・12月1日（木）
  - －ワークショップ2「バイオセーフティガイドラインと認定制度」
  - －基調講演「宇宙医学とバイオセーフティ（案）」
  - －シンポジウム2「バイオセーフティとバイオセキュリティ（案）」
  - －ランチョンセミナー
  - －一般演題

## 第16回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会 開催について

第16回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会は加來浩器学会長（防衛医学研究センター）のもと2016年11月30日（水）～12月1日（木）に大宮ソニックシティ（埼玉県さいたま市）で開催されることとなりました。セッション講演、一般演題発表、機器・器材展示などを行う予定です。

第16回集会の事務局を設けますので、ご質問などは学会事務局までご連絡ください。多くの会員、その他の方々のご参加をお願いいたします。

募集演題分類項目：

1. 安全管理全般（安全管理運営、教育・研修、病原体管理、病原体輸送、他）
2. 病院・検査室バイオセーフティ
3. 動物バイオセーフティ
4. 安全機器、器具（安全キャビネット、防護具、他）
5. 施設・設備設計（実験室、隔離病棟、病院検査室、他）
6. 除染全般（消毒、滅菌、感染性廃棄物処理、他）
7. その他

演題募集締め切り：

2016年9月15日（木）

申し込み方法：

プログラム作成用紙と講演要旨記入用紙をダウンロードの上、電子メールで送信願います。

申込先：

日本バイオセーフティ学会事務局  
biseibutsu-com@umin.ac.jp

お問い合わせ先：

日本バイオセーフティ学会事務局  
株式会社 微生物科学機構内  
〒112-0002 東京都文京区小石川 4-13-18  
E-mail: biseibutsu-com@umin.ac.jp

# 第15回総会・学術集会講演報告

## ■特別シンポジウムⅡ 2. エボラ出血熱

### 1) エボラウイルスとは

高田 礼人

北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター

#### はじめに

近年、多くの新興感染症が世界各地で発生しているが、それらの多くは、自然界の野生動物が保有し

ているウイルスが、家畜、家禽そしてヒトに伝播して感染症をひきおこす人獣共通感染症である。エボラ出血熱も、そのような人獣共通感染症の一つであ

表1. フィロウイルスによる感染症の発生

属	種	年	発生国	患者数 (死亡者数)		
<i>Marburgvirus</i>	<i>Marburg marburgvirus</i>	1967	ドイツ、旧ユーゴスラビア	31(7) <sup>a)</sup>		
		1975	南アフリカ	3(1) <sup>a)</sup>		
		1980	ケニア	2(1)		
		1987	ケニア	1(1)		
		1990	ロシア	1(1)		
		1998-2000	コンゴ民主共和国 (旧ザイール)	154(128)		
		2004-2005	アンゴラ	252(227)		
		2007	ウガンダ	4(1)		
		2008	アメリカ	1(0) <sup>a)</sup>		
		2008	オランダ	1(1) <sup>a)</sup>		
		2012	ウガンダ	15(4)		
		2014	ウガンダ	1(1)		
		<i>Ebolavirus</i>	<i>Zaire ebolavirus</i>	1976	コンゴ民主共和国 (旧ザイール)	318(280)
				1977	コンゴ民主共和国 (旧ザイール)	1(1)
1994	ガボン			52(31)		
1995	コンゴ民主共和国 (旧ザイール)			315(250)		
1996	ガボン			37(21)		
1996-1997	ガボン			60(45)		
1996	南アフリカ			2(1) <sup>a)</sup>		
2001-2002	ガボン、コンゴ共和国			122(96)		
2002-2003	コンゴ共和国			178(158)		
2005	コンゴ共和国			12(9)		
2007	コンゴ民主共和国 (旧ザイール)			264(187)		
2008-2009	コンゴ民主共和国 (旧ザイール)			32(15)		
2014	ギニア、リベリア、シエラレオネ他			28331(11310) <sup>b)</sup>		
2014	コンゴ民主共和国 (旧ザイール)			66(49)		
<i>Sudan ebolavirus</i>	1976			スーダン	284(151)	
	1976			イギリス	1(0) <sup>c)</sup>	
	1979			スーダン	34(22)	
	2000-2001			ウガンダ	425(224)	
	2004			スーダン	17(7)	
	2011		ウガンダ	1(1)		
	2012a		ウガンダ	24(17)		
	2012b		ウガンダ	7(4)		
<i>Tai Forest ebolavirus</i>	1994		コートジボアール	1(0)		
<i>Bundibugyo ebolavirus</i>	2007-2008		ウガンダ	149(37)		
	2012		コンゴ民主共和国 (旧ザイール)	77(36)		
<i>Reston ebolavirus</i>	1989		アメリカ	0(0) <sup>a)d)</sup>		
	1990		アメリカ	4(0) <sup>a)e)</sup>		
	1989-1990		フィリピン	3(0) <sup>e)</sup>		
	1992		イタリア	0(0) <sup>a)d)</sup>		
	1996		アメリカ、フィリピン	0(0) <sup>a)d)</sup>		
	2008		フィリピン	6(0) <sup>f)</sup>		

- a) 輸入例。
- b) 2015年9月26日現在。ヨーロッパやアメリカでも感染者が出た。
- c) 研究室で針刺し事故で感染。
- d) 発症したのはサルのみ。
- e) 発症したのはサルのみ。感染したサルを取り扱った関係者（無症状）に血中抗体の上昇が認められた。
- f) 豚生殖器・呼吸器症候群のブタから分離されたが、レストンエボラウイルスの感染と疾病との因果関係は不明。感染したブタと接触した関係者（無症状）にウイルスに対する抗体が検出された。

る。エボラウイルスは、何らかの野生動物に感染し自然界に存続しており（そのような動物をそのウイルスの“自然宿主”と呼ぶ）、ヒトあるいはサルに伝播すると致死率の高い感染症を惹き起す。

### エボラおよびマールブルグウイルス

分類学的にエボラウイルスはフィロウイルス科に属する。エボラ出血熱に類似する感染症を引き起こすマールブルグウイルスもフィロウイルス科に含まれている。最初に発見されたのはマールブルグウイルスで、1967年にウガンダから研究用として輸入されたアフリカドリザルからヒトに感染し、ドイツでウイルスが分離された。一方、エボラウイルスは1976年にコンゴ民主共和国（旧ザイル）およびスーダンで発見された。その後も、これらのウイルスによる感染症は、新種のエボラウイルスの発見を伴いながら、中央アフリカ諸国を中心に散発的に発生し続けており、近年その頻度は高くなっている（表1）。特に、2014年に西アフリカで発生したエボラ出血熱は未曾有の大流行となり、世界的な問題となった。

### 病態

エボラウイルスの病原性は極めて高く、致死率は時に90%近くに達する。病原性はウイルス種 (*Zaire ebolavirus*, *Sudan ebolavirus*, *Tai Forest ebolavirus*, *Bundibugyo ebolavirus* 及び *Reston ebolavirus*) によってやや異なる。体内への侵入経

路は主に粘膜や傷口である。血液、粘液および嘔吐物等を介して体内に侵入したエボラウイルスは最初に、自然免疫応答を担う樹状細胞やマクロファージに感染し、これらの細胞が機能障害に陥る。また、リンパ球などの応答も阻害され、獲得免疫も妨げられる。このような免疫抑制状態がエボラウイルスの高い病原性発現に関わっていると考えられる。感染初期には風邪やインフルエンザに似た症状しか起こさないが、後期にはウイルスが全身に広がり各臓器の機能を破壊すると同時に、サイトカインストーム、血液凝固障害及び血管内皮細胞機能障害などによる出血症状を呈し（図1）、最終的に多臓器不全となる。一方、2014年の西アフリカで流行したエボラウイルスの感染例では、典型的な出血症状が見られない症例が多く、最近ではエボラウイルス病と (*Ebola virus disease*) 呼ばれるようになってきた。

### 予防・治療法

2014年の西アフリカにおける大流行を契機に、エボラ出血熱に対する効果的な予防・治療法の開発・実用化に向けた研究が世界中で加速された。エボラウイルス遺伝子の一部を他の安全性の高いウイルスの遺伝子に組み込んだウイルスワクチンが、2014年のエボラ出血熱流行時に使用され、ある程度の効果と安全性が確認された。一方、治療薬の開発も進んできている。近年、ウイルスに対する中和抗体の投与が有効であることがサルの感染モデルで相次いで証明され、2014年の流行時に、感染者に対して未承認薬ながら抗体療法が実施された。さらに、ウイルス遺伝子の合成を選択的に阻害する化合物も見つかってきている。Favipiravir (アビガン®錠) は、もともと抗インフルエンザウイルス薬として開発されたが、エボラウイルスを含む様々なRNAウイルスのRNAポリメラーゼを阻害する可能性があり、ギニアで臨床試験が行われた。今後は、抗体療法を中心に、作用機序の異なる数種類の方法を組み合わせて用いる治療法の検討が期待される。

### エボラウイルスの自然宿主

エボラウイルスはヒトに対し急性かつ致死率の高い感染症を惹き起こすため、ヒト集団内で長期にわたり維持されることはなく、その存続のためには自然宿主となる動物の存在が不可欠であり、ヒトへの感染は偶発的なものである。現在、エボラウイルスの自然宿主として有力視されているのが果物を主食とするコウモリ、いわゆるフルーツバットである。しかし、フルーツバットが感染性のエボラウイルス

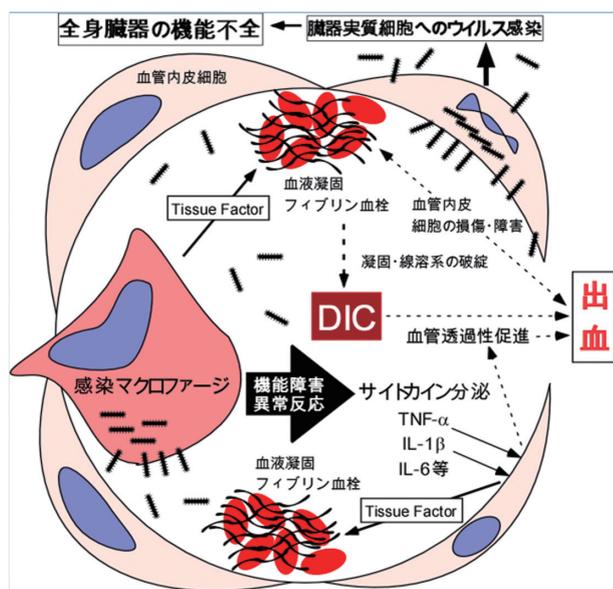


図1. エボラウイルスと出血熱の発症



写真1. マールブルグウイルスが分離されたフルーツバット (*Rousettus aegyptiacus*)

を長期的に維持し、他の動物への直接の感染源となっているという事は証明されていない。一方、マールブルグウイルスは、2007年にウガンダの鉱山労働者の中でマールブルグ出血熱が流行した際に、坑道内に生息していたフルーツバットから実際に分離され、ヒトへの感染源となっていたことが証明された(写真1)。

#### 終わりに

エボラ出血熱対策確立のためには、病原性発現メカニズムの解明や予防・診断・治療法の開発とともに、自然宿主あるいはキャリアとなる動物を同定し、ヒトへの伝播経路を解明することが重要な課題となる。

## ■特別シンポジウムⅡ 2. エボラ出血熱

### 4) エボラ出血熱に対する国内医療機関体制

加藤 康幸

国立国際医療研究センター国際感染症センター国際感染症対策室

#### はじめに

2013年末に始まった西アフリカにおける過去最大のエボラ出血熱(Ebola virus disease: EVD)の流行では、アフリカばかりでなく欧米においても25名を超える患者の治療が行われ、スペインや米国では、西アフリカと同様に医療従事者の二次感染事例が発生したことは記憶に新しい。わが国も1999年に感染症法が施行されてから初めて、一類感染症の疑似症患者に対して感染症指定医療機関への入院勧告を含む一連の行政対応が行われることとなった。

#### 1. エボラ出血熱対策における医療機関の役割

EVDの流行制圧策は、西アフリカにおいても、日本国内でも基本的な考え方は同じである。すなわち、1)速やかな患者の診断と隔離、2)接触者の把握と健康観察、3)遺体からの感染防止、4)社会啓蒙などである。この流行制圧策の中で医療機関は、1)の役割を担うことになる。

感染症法の前文には、「感染症の患者等の人権を尊重しつつ、これらの者に対する良質かつ適切な医療の提供が求められている」という記載がある。医療機関は、しばしばEVDの感染拡大の場ともなるため、患者への適切な医療の前提として、後述するような施設内感染、特に医療従事者の職業感染防止に細心の注意を払う必要がある。

#### 2. 今回の流行までの医療機関における準備

伝染病予防法時代の1976年に、ラッサ熱患者と同じ飛行機に搭乗した旅行者5名を検疫対象とした事例が、わが国のウイルス性出血熱(viral hemorrhagic fever: VHF)への備えの始まりと考えられる。ラッサ熱は指定伝染病に指定され、1979年には都立荏原病院(当時)に英国の施設をモデルにした高度安全病棟が設置された。実際にこの病棟は1987年にシエラレオネから帰国したラッサ熱患者を収容することとなったが、感染症法の施行前に閉鎖された。1992年には旧ザイルでゴリラと接触

歴のある患者にエボラ出血熱が疑われた事例も発生した（最終診断は熱帯熱マラリア）。1995年には旧ザイールでEVDの流行が発生し、1999年施行の感染症法にも大きな影響を与えた。EVDなどのVHFは一类感染症に指定され、患者の医療は原則として各都道府県に設置される第一種感染症指定医療機関で行われることとなった。

その後、医療機関における準備は十分な検討がなされてこなかった面があり、筆者は厚生労働科学研究費補助金による研究班を組織し、2011年度から第一種感染症指定医療機関の医師、看護師を対象に国立国際医療研究センターで2日間の一類感染症ワークショップを開催したのが、全国的な研修会の初めである（2013年度までに31施設から74名が参加）。この研究班により、現場での活用を目的としたウイルス性出血熱診療の手引き（第一版）が作成された頃に発生したのが今回の西アフリカにおけるEVDの流行であった。

### 3. 国内におけるエボラ出血熱疑似症患者に対する医療機関の対応

#### ① 2014年10月までの状況

上述した診療の手引きによれば、渡航歴や曝露歴からVHFの蓋然性が高い患者を選別し、まずマラリアなどの罹患し易い感染症を除外することが推奨されている。サハラ以南アフリカ、特にEVDの流行地でもある西・中央部アフリカにおけるマラリア罹患率の高さは特筆すべきものがあり、実際、国立国際医療研究センターにおいても2014年6月から9月までに西アフリカのEVD流行地から日本に入国あるいは帰国した旅行者に4例の熱帯熱マラリアを診断した。

#### ② エボラ出血熱疑似症患者の症例定義変更後の状況

厚生労働省は西アフリカにおけるEVDの流行拡大を受けて、2014年10月24日付で自治体に対して、西アフリカのEVD流行地から入国して発熱がある患者をEVDの疑似症患者として、特定または第一種感染症指定医療機関に入院勧告するよう通知を发出した。患者の指定医療機関までの移送は、最寄りの保健所によって行われる。なお、同年11月21日付の通知では、EVD患者と接触歴がある場合を除いて、発熱を38℃以上と限定した症例定義が2015年9月まで適用された。この間に9例の疑似症患者が東京、千葉、静岡、大阪、福岡から報告されたが、

すべて実験室診断の結果、EVDは否定された（うち、4例はマラリアと診断）。

#### ③ 後継研究班による第一種感染症指定医療機関の支援活動

先に紹介した研究班は2014年度も継続され、2014年10月から2015年2月までに、全国の第一種感染症指定機関45施設のうち、19施設でワークショップ（1日間）を開催した。研修内容は、1) 現地支援に従事した班員によるEVDに関する講義、2) 施設の準備状況の評価、3) 実働訓練を含めた疑似症患者対応の確認、の3つを骨子とした。また、検査技師を対象としたバイオセーフティ研修を2015年2月に開催し、全国の指定機関45施設のうち、44施設からの参加を得た。診療体制、治療モニタリングのための検査、職員の健康管理などが共通の課題と考えられた。

#### ④ 未承認薬の投与体制の整備

世界保健機関は致死率の高いEVDの患者に実験的治療薬を投与することは倫理的に許容されるという見解を公表した。わが国においては、特定感染症指定医療機関（国立国際医療研究センター病院、成田赤十字病院、りんくう総合医療センター）において、患者が発生した場合にファビピラビル（新型および再興インフルエンザに対して条件付き承認済み）の評価を行う臨床試験が立ち上げられた。実際に国内で患者や高リスク接触者が発生した場合の本試験への登録は、一类感染症の治療に関する専門家会議の助言を得て行うことになっている。

#### おわりに

2016年1月現在、全国に4の特定感染症指定医療機関、47の第一種感染症指定医療機関（計98床）が整備されている。施設基準があるハード面に比べて、感染症内科などの窓口となる診療科が存在しない施設があるなどの人材面に課題がある。現在の医療体制は患者の移送に要する時間は短くなるものの、人材を分散させている面があることを否めず、患者に適切な医療を提供するという観点から再検討が必要かもしれない。先に紹介した厚労省の通知によれば、第一種感染症指定医療機関から必要に応じて、特定感染症指定医療機関への転院の道が示されており、今後、各指定医療機関の役割や長距離の患者移送手段について議論されることが期待される。

■セッションⅡ

## BSL3 室 扉開閉時の粒子の挙動解析と交叉汚染対策

三浦 裕一  
ダイダン株式会社

### 1. はじめに

室圧制御を行っている室においても、扉を開閉する際には交叉汚染のリスクが生じる。この交叉汚染は、特に BSL3 室においては、感染事故の原因となる可能性が高い。一般に BSL3 室では、一般廊下から更衣室やパスルーム、そして BSL3 室に向かって気流が生じるように室圧を低くし、その圧力勾配によって、微小な隙間に生じる気流の方向を制御し交叉汚染を防止している。しかしながら扉が一旦開かれると、両室間の扉開口部での圧力勾配がなくなり、2 室はほぼ同一の室圧となる。圧力勾配のほとんどない扉開口部近傍の気流は、その方向が定まらないため、空気の混合が起こり交叉汚染を引き起こす要因となる。また、人や物が扉開口部を通過するのに伴って気流が乱され、後流に渦が発生し、人や物に誘引されるように持ち出される汚染物質もある。さらには、扉の開閉動作（スイング動作）そのものが渦流を起し、汚染空気を誘引させることも考えられる。これら扉開閉に伴い発生する交叉汚染を防止する一つの手法として、前室（パスルーム）の設置といった建築的な手法が、有効な方法として用いられている。しかしながら、一度

前室内に流入した汚染空気が清浄に回復されるためには、換気回数 10~20 回/h で、一般に 10 分以上の締め切り時間が必要であると考えられるため、現実的な運営においては、十分な有効な手法とは言えない。

当社は、新しい空調室圧制御技術（扉を開放した時に一方向気流を積極的に形成し、交叉汚染リスクを低減する技術）を開発している。本報では、扉のスイング動作や人・物が扉開口部を通過することで発生する空気渦の状況、さらにその時において、扉開口部に一方向気流を流す手法の有効性を、気流シミュレーションソフトを用いて確認したので、その結果を紹介する。また、気流シミュレーションソフトによる解析結果の確からしさを確認するため、扉のスイング動作により発生する空気渦状況について、トレーサ（液体海面活性剤の膜に覆われた気泡）を用いて実証実験を行ったので、その結果を紹介する。

### 2. 検証の方法

#### 2-1 気流シミュレーションソフトを使用した検証方法

扉開口部で人が移動する際において、一方向気流

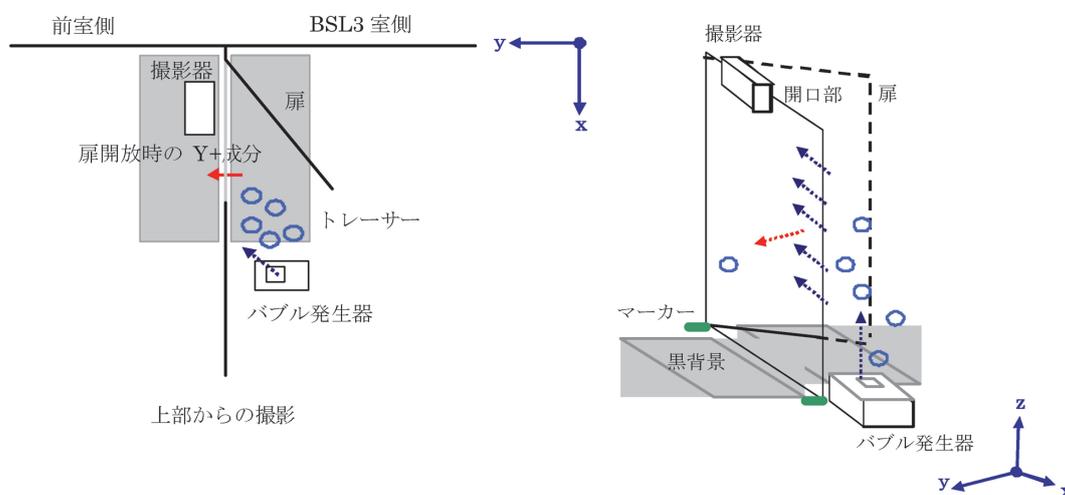
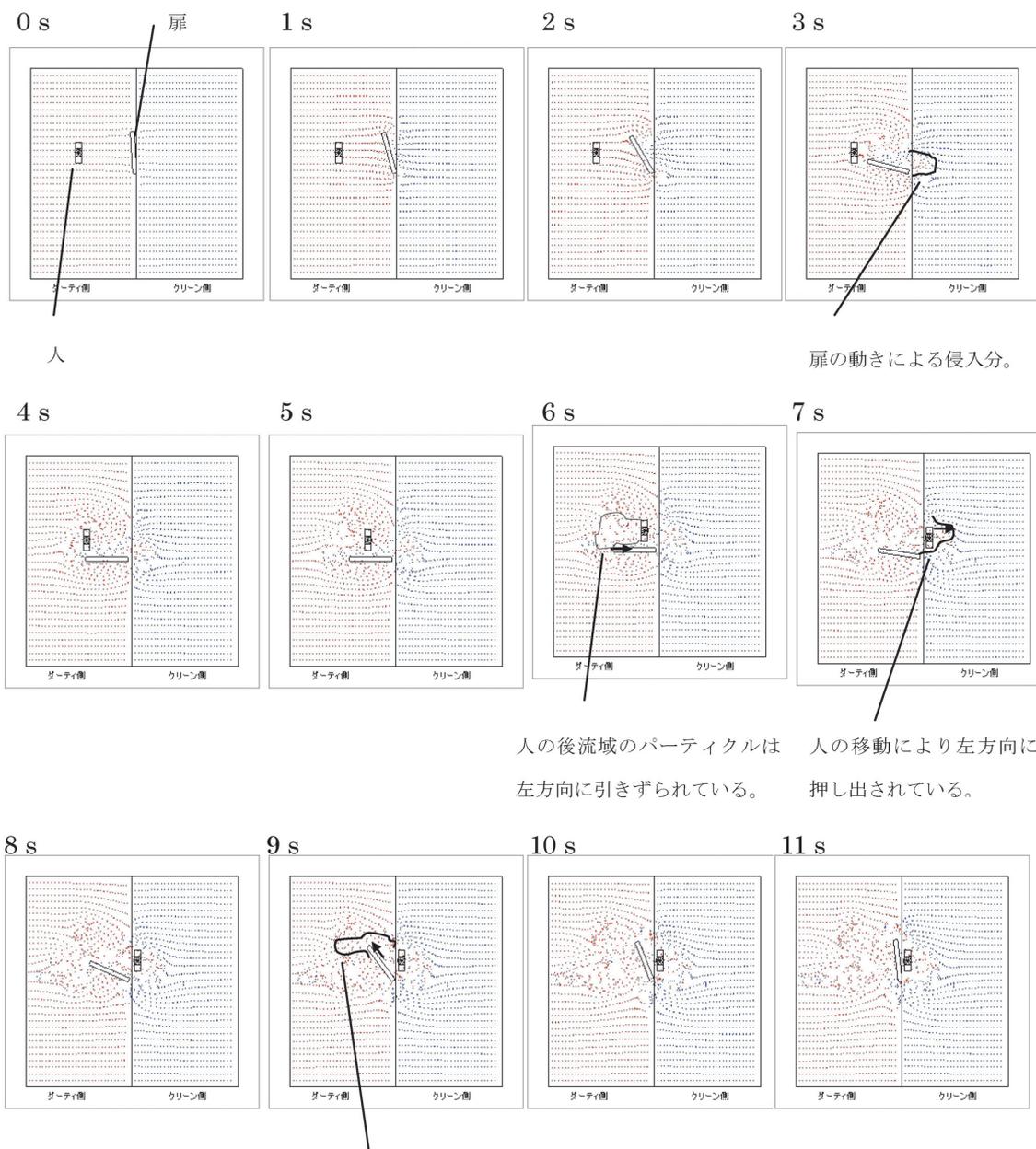


図 1. 実験装置概略図

の有無が交叉汚染にどの程度影響を及ぼすかを、気流解析シミュレーションソフトにて確認を行った。計算には差分法による三次元流体解析を行う汎用ソフト「STREAM」(株式会社ソフトウェアクレイドル社製)を使用した。乱流モデルは $k-\epsilon$ モデルを、移流項の差分スキームにはベキ乗則を、解法はSIMPLEアルゴリズムを適用した。扉を移動境界条件とし、扉を閉じた状態から一定速度でBSL3室側(ダークティ側)へ開くものとした。扉が90°開放されてから、人

を模擬した立体をBSL3室側から前室側(クリーン側)まで移動させた。扉が90°開放された状態から扉が閉まり始める前までの間に、扉開口部に一方気流を流さない場合と流した場合との比較検証とした。また、室内にはパーティクルを配置し、初期状態で前室側にあるパーティクルは青、BSL3室側にあるものを赤とした。パーティクルに働く作用は移流効果のみで拡散、重力による沈降、発生・消滅はないものとした。



人

扉の動きによる侵入分。

人の後流域のパーティクルは左方向に引きずられている。

人の移動により左方向に押し出されている。

扉が閉まる際は、扉のある部屋側へ出ていく

図2. 扉開閉時の浮遊粒子の移送の様子(扉通過風速なし)

## 2-2 扉のスイング動作による空気渦発生状況の検証方法

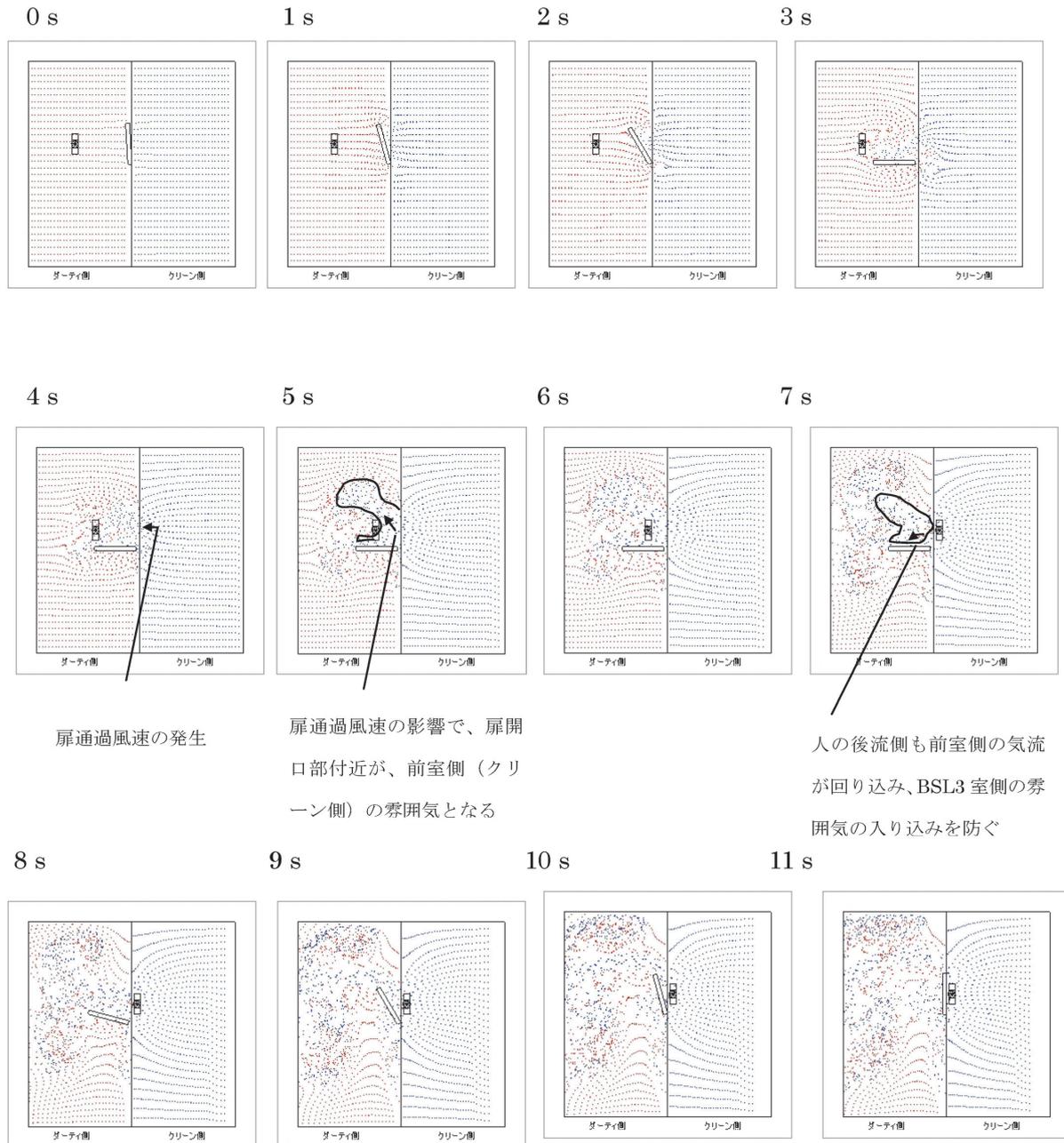
扉のスイング動作に伴う空気渦の発生状況について、トレーサを用いて可視化した<sup>1)</sup>。トレーサは、液体界面活性剤の膜に覆われた気泡を用いた。撮影は扉上部より行い、扉を開閉させた時のトレーサの動きを観察した。(図1)

## 3. 検証の結果と考察

### 3-1 気流シミュレーションソフトを使用した検証

図2は一方向流がない場合であり、図3は一方向流風速を0.05 m/sとした場合の様子である。

図2の一方向流がない状態では、BSL3室側（ダーティ側）空間のパーティクルが人の後流域にとどま



扉通過風速の発生

扉通過風速の影響で、扉開口部付近が、前室側（クリーン側）の雰囲気となる

人の後流側も前室側の気流が回り込み、BSL3室側の雰囲気の入り込みを防ぐ

BSL3室側からの前室側への漏えいはほとんどない

図3. 扉開閉時の浮遊粒子の移送の様子（扉通過風速 0.05 m/s）

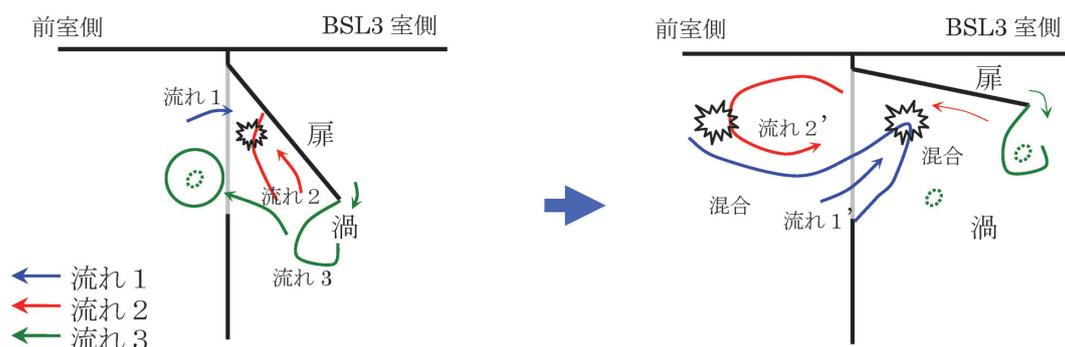


図4. 扉が開く瞬間の渦の発生と流れのイメージ

り、人の移動に伴ってクリーン側へ侵入している様子である。

図3は一方向流による影響で、扉付近は前室側(クリーン側)の雰囲気になり、人の後流域のパーティクルも徐々に少なくなっていることが伺える。また、人が前室側に移動した際に持ち込まれるBSL3室側からのパーティクル数は、一方向流がない状態よりも少なかった。

扉の回転方向や、一方向流の風速などの条件により結果に差異が生じるが、扉通過風速を設定することで、人や物の移動に伴って侵入する浮遊粒子数を低減できる可能性が定性的に確認できた。以上のことから、扉開口部に一方向気流を形成することが、交叉汚染防止対策の一助となる。

### 3-2 扉のスイング動作による空気渦発生状況の確認

図4、および写真1に示すように、扉を開けた瞬間、扉の動きにより形成される流れは、空気が混合する様子をよく表している<sup>2)</sup>。扉を開けるとまず、室1側から扉の動きに引き寄せられる流れ1、扉に沿う流れ2と、扉の先端でできた渦が、室1に流れ込む流れ3が生じる。その後、室1側からの流れ1'と流れ2'が扉付近で混合する。この現象については、気流シミュレーションソフトによる解析とほぼ同様の結果が得られた。流れの形成は扉の動きに起因するため、差圧の有無に関わらずほぼ同様となった。また、扉の動作速度が速いほど顕著に生じた。つまり、扉の開閉動作速度を遅くすることで、クロスコンタミネーションを起こす可能性のある気流および渦を弱めることが可能である。扉チェッカーなどで、利用者にストレスを与えない範囲で動作速度を遅くすることや、設置が可能であれば、スライドドアの採用が望ましい。

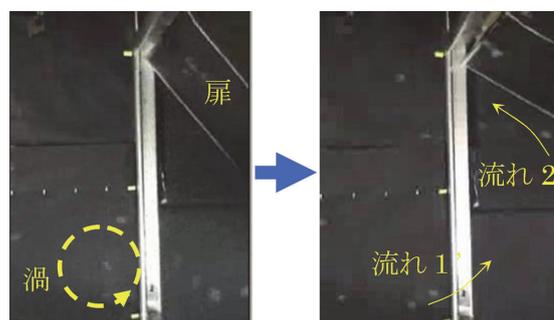


写真1. 扉が開く瞬間の渦の発生の様子

## 4. おわりに

扉開閉時において、その開口部に一方向気流を形成させることにより、BSL3室の雰囲気が前室側への侵入を防止、すなわち交叉汚染防止対策の一助となることがわかった。

前室を設置することで扉開閉時の圧力変動に対する対策は十分に行えるが、浮遊粒子の移送を遮断するには、前室内の換気回数を高くしていても、所定の滞在時間が必要となる<sup>3)</sup>。BSL3室など、浮遊粒子の移送管理をより厳格に行う際には、一方向気流形成技術との併用を行うことが望ましいと言える。

## 引用文献

- 1) 山口太朗、長谷川雅一、橋本明洋、「クリーンルームのコンタミネーションを抑止する制御システムの開発その1」、ダイダニ技報(2005)、Vol.97、pp.19-24.
- 2) 松平晏明、小暮佑紀、杉原義文、小原弘道、「スイング式ドア開閉によるクリーンルーム内の空気流動」、日本機械学会論文集(B編)(2004-10)、Vol.70、No.698、pp.2515-2522.
- 3) 石原正也、尾池聡、大曲康仁、東島浩史、「バイオハザード対策実験室の風量・室圧制御」、クリーンテクノロジー(2010.9)、pp.18-23.

■セッションⅢ

## バイオハザード対策用防護服の現状と課題

熊谷 慎介

アゼアス株式会社

篠原 克明

国立感染症研究所 バイオセーフティ管理室

### はじめに

実験室での微生物の取り扱いや、屋外、医療施設などで感染リスクを伴う活動では、作業に従事する者が感染することを防ぐこと、また周囲への感染拡大を防止することが求められる。バイオセーフティーを達成するためには、各々の作業におけるリスクに対応した性能をもつPPE (Personal Protective Equipment) の選択、使い分けが必要である。PPEの構成要素の一つである防護服の選択には、2007年に発行された日本工業規格「JIS T 8122 生物学的危険物質に対する防護服種類及び試験方法」を参照することができるが、リスクに応じた用途基準や性能基準はいまだ確立されていないのが現状である。本発表では感染症対策用に使用されている防護服の現状（関連する国際規格、国内規格のまとめ、使用者の選択方法、課題）を整理し、使用者が適切な防護服を選択、使用するための解決策を考察したい。

### 世界の規格と国内規格

現在、ヨーロッパ (EN)、アメリカ (ASTM)、日本 (JIS) では、感染症対策用に用いられる防護服に関する製品規格が発行されており、また国際規格

(ISO) では防護性能を測定する試験方法規格が発行されている。下記にそれらの規格の一例を挙げる。

日本では、JIS T 8122 を作成する段階で適切な防護性能を測定するための評価方法を検討し、「JIS T 8122 生物学的危険物質に対する防護服種類及び試験方法」として2007年に発行された。下記に基本的な要求事項をまとめた。

### 防護服の選択、使用時の実際

日本ではこれらのJIS規格を元に使用者が各々の作業、取り扱う病原体がもたらすリスクを評価し、

**ISO (International Standard)**

- ISO 22609 2004 : Clothing for protection against infectious agents – Medical face mask
- ISO/DIS 22610 : Surgical drapes, gowns and clean air suits, used as medical devices, for patients, clinical staff and equipment
- ISO/DIS 22611 : Clothing for protection against infectious agents – Test method for resistance to penetration by biologically contaminated aerosols.
- ISO 22612 2005 : Clothing for protection against infectious agents – Test method for resistance to dry microbial penetration.
- ISO 18603 2004 : Clothing for protection against contact with blood and body fluids – Test method using synthetic blood.
- ISO 18604 2004 : Clothing for protection against contact with blood and body fluids – Test method using Phi-X-174 Bacteriophage.

**EN (ヨーロッパ EN規格)**

- EN374 -1 : Protective gloves against chemicals and micro-organisms Part1: Terminology and performance requirements
- EN374 -2 : Part2: Determination of resistance to penetration
- EN374 -3 : Part3: Determination of resistance to permeation by chemicals
- EN13795-1 : Surgical drapes, gowns and clean air suits, used as medical devices, for patients, clinical staff and equipment Part1: General requirements for manufacturers, processors and products
- EN13795-2 : Part2: Test methods
- EN13795-3 : Part3: performance requirements
- EN14126 : Protective clothing Performance requirements and tests methods for protective clothing against infective agents

**防護服素材の性能評価 (JIS T 8122 2007)**

試験項目	気密服	陽圧服	密閉服	部分防護服	部分防護具
耐透過性能	○	○	○	○	○
耐人工血液透過性能	◎	◎	◎	◎	◎
耐バクテリオファージ透過性能	○	○	○	○	○
耐液体透過性能	○	○	○	○	○
耐液体反応性	○	○	○	○	○

◎: 必須試験  
○: 推奨試験

必要とするPPEの仕様(形状、防護性能等)を決定し、購入、調達を行っているのが現状である。現在使用されている防護服の多くは、元々化学防護服(JIS T 8115)として開発、販売されているものが多い。それらはガス、液体、固体(粉じん)からの防護を想定している。バイオハザード対策という観点から防護対象を設定すれば、ウイルス等の微粒子やそれらを運搬する媒体である液体(血液、体液)が考えられる。また作業内容や状況によっては、それらがスプラッシュの状態で使用者にばく露したり、エアロゾル化された微粒子が空気中を浮遊してばく露することが想定される。防護性能としては化学防護服も流用可能と考えられるが、一方、一昨年発生しているエボラアウトブレイクなどの脅威に対応するためには、感染経路別、リスク別に対応可能な、バイオハザード対策専用防護服が求められている。例えば高い防護性能を求めるあまりに、服内部へ着用者の発する熱が滞留し、それによる過剰な発汗によって脱水症状が発生する恐れもある。また、取り扱う病原体によっては着用者の粘膜、皮膚を覆うことで感染経路を遮断するという防護措置が必要とされる一方で、コスト、生産性との兼ね合いで設計された製品のデザイン、形状が着用者と適合せず、着用時に隙間が発生してしまうというような課題が挙げられる。

### 今後の課題

これらの側面から現状の防護服に関する課題を整理すると、下記の点が挙げられる。

- 1) 防護服の性能表示：防護性能、機能、構造、使用限界などの性質を明示すること。
- 2) 性能、機能の向上：快適性、脱衣しやすさ、作業性の向上
- 3) 供給体制の確保：有事の際の供給量の確保

JIS規格の発行など、感染症対策用に用いる防護服の適切な選択と使用のための環境は整備されてきているが、上記のような課題が今後提起されると考

える。一つ目として、適切な防護服の選択と使用には、使用する防護服がどの程度の防護性能を持ち、また一方でその防護服の性能限界はどのレベルであるのかを使用者が知った上で、使用することが重要である。その為には性能、機能、使用限界などの製品情報を製品に表示することが求められるところである。

二つ目として、よりよい防護服を市場に提供することが挙げられる。感染症対策用防護服の目的は、病原体が着用者の体に侵入するルートを断つことと、ばく露量を感染必要量以下に減らすこととすれば、防護性能を向上させることのみを追求するのではなく、逆に防護性能を削ることで、快適性や作業性を向上させたり、脱衣を容易にする構造を取り入れたりすることを検討する余地があると考えられる。例えば、防護対象を飛沫感染対策に特化できるのであれば、全身を覆いつつ、適度に快適性を生むような、服内にも空気が出入りするような構造の防護服も十分検討に値すると考える。

三つ目として、パンデミック時などは、平常時に市場に流通している量の数倍の量の防護服やマスクの需要が想定される。生産能力の向上とともに、初期対応用のPPEを備蓄するなど、供給面での体制構築が必要だと考える。一般的には企業としては、なるべく在庫を減らして財務体質の合理性を追求するという考え方を採用する傾向が強いが、通常の感染症対策用防護服の需要を賄う一方で、パンデミック時にも品不足を起こさないように供給を継続させるということは個々の企業の努力では限界もある。その為、平時の市場流通量を生産しつつ、有事の際の供給を賄うような供給体制を持つ努力をすることと、同時に例えば初期対応分については、地区別にPPEを備蓄するなどの体制をとることも必要ではないかと考える。

これらの課題への取り組みを通して、バイオハザード対策専用防護服の必要性の認知と、製品開発による普及につなげていきたい。

■セッションV

## 1) BSC 流入風速の日常の確認方法

小野 恵一

(株) 日立産機システム クリーンエア装置設計グループ

### はじめに

バイオハザード対策用クラスIIキャビネット（以下：BSC）は、病原体等の取り扱いにおいて、作業者を守るとともに、無菌操作を可能にする重要な装置です。実験室バイオセーフティ指針<sup>1)</sup>では、使用者がBSCの性能を理解していることの重要性を記載しています。近年、使用者の操作を補うべく、様々な機能を付加したBSCが発売されています。今回、最も重要な流入風速を表示する機能について紹介します。

### BSCの基本機能

タイプA2のBSCの断面構造図を図1に示します。

前面開口部から吸い込んだ流入気流は、作業空間背面を通りファンに吸い込まれます。一部の空気は、排気HEPAフィルタにより病原体等を含むエアロゾルをろ過され、BSCから排気されます。他の空気は、吹き出しHEPAフィルタにより清浄化され、清浄空気として作業空間に供給されます。

BSCは、取り扱う微生物・病原体等の実験室への漏洩を防止する「作業者の安全性」、無菌操作を可能とする「試料保護」、作業空間内でのクロスコンタミを防止する「試料間の相互汚染防止」の3つ

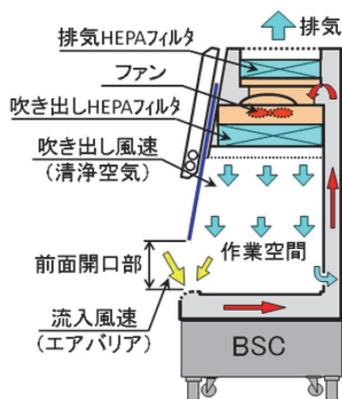


図1. BSCの断面構造図 (タイプA2)

の機能を有しています。その試験方法は、気流バランス試験と称し、日本のJIS K 3800<sup>2)</sup>や米国のNSF/ANSI 49<sup>3)</sup>に規定されています。図2に作業者の安全性試験の例を示します。規格で定められたネブライザで枯草菌芽胞を含むエアロゾルを噴霧し、芽胞が漏れ出していないか評価します。BSCメーカーは、初号機の形式検査時に気流バランス試験を実施し、性能保証する風速を評価します。気流バランス試験を満足する風速は、メーカー毎に異なります。規格で定められた通り、量産時は気流バランス試験を合格した気流が再現していることを風速測定し、確認して出荷します。

BSCを使用する場合、気流バランス試験により隔離性能を評価した気流と同じ状態であることが重要です。図3に新旧のBSCを示します。旧型は、エアバリアである流入気流が発生していることを表

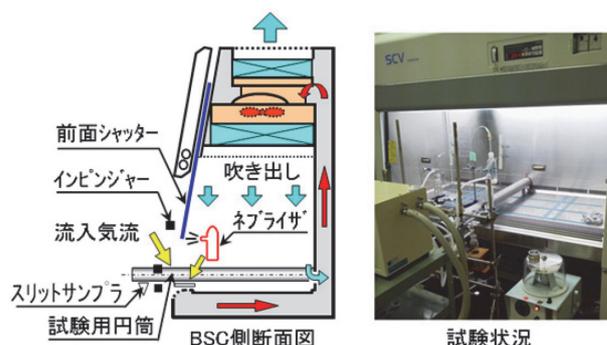


図2. 作業者の安全性試験の例



図3. 新旧のBSC

示する機能を持たないため、前面シャッター下端に細い糸を垂らし、糸の動きで流入気流発生を確認する方法がありますが、この方法では、適切な風速の発生を確認することが困難です。

近年、平均流入風速をデジタル表示し、エアバリアが有効であることを確認できるBSCが発売されています。BSC規格のJIS K 3800<sup>2)</sup>には、HEPAフィルタのモニタとして「HEPAフィルタの圧力損失を表示する差圧計を設置することが望ましい。」と記載していますが、デジタル風速表示方法に関して記載していません。米国規格NSF/ANSI 49<sup>3)</sup>も同様です。デジタル風速表示は、各メーカー独自の工夫で実現しています。日立の例を紹介します。

### デジタル風速表示の原理

デジタル風速表示で平均流入風速を表示する方法を図4に示します。

管理する数字は、流入風量(Q)を前面開口部面積(A)で除した平均流入風速(V)です。一般的に使用されているタイプA2の場合、流入風量(Q)と排気風量(Q')は等しくなります。排気風量(Q')の変化を見るため排気HEPAフィルタ下流側にセンサーを設けると、センサー部の風速変化率は、平均流入風速(V)の変化率に等しくなります。この方法で、平均流入風速(V)の変化を捉えます。

次に、デジタル風速表示値が定期点検時に測定した平均流入風速値に合っている必要があります。デジタル風速表示値は、センサー出力に係数を乗じた値を表示します。定期点検時に、この係数を調整し

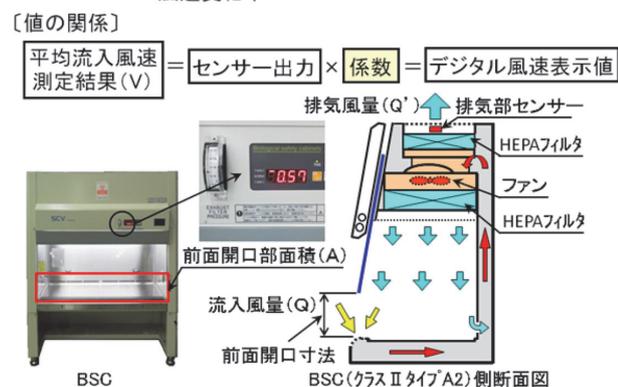
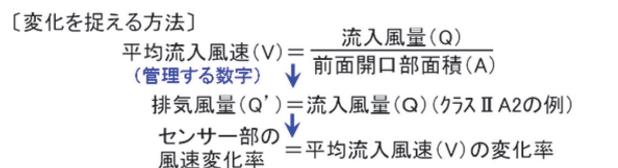


図4. デジタル風速表示方法の例 (平均流入風速)

てデジタル風速表示値を平均流入風速測定結果に合わせた後、係数を固定します。係数が変化するとデジタル風速表示値も変化するので、係数の値はBSCの電源停止時も記憶しています。

平均流入風速とセンサー出力の関係から風速の変化を捉え、係数によりセンサー出力を実際の平均流入風速に合わせることで、BSC使用時は、デジタル風速表示の数値の変化により、平均流入風速の変化を推定することが可能になります。直接的に値を捉えていませんので測定器ではありません。

### デジタル風速表示動作の例

使用時に想定される以下の条件での、実際の平均流入風速、デジタル風速表示値、排気HEPAフィルタの差圧の変化をご紹介します。

- (1) 前面開口部の吸込みグリッドにノートを置く
- (2) 排気HEPAフィルタの目詰まり状況を再現
- (3) 流入風速、選定風速値-0.05m/sを再現
- (4) 密閉式ダクト接続で排気ダンパー閉状態を再現
- (5) 前面シャッターを全閉した

### 表示動作確認の前に

表示動作確認の前に、定期点検同様、平均流入風速を測定し、測定結果にデジタル風速表示値を合わせます。図5に平均流入風速の測定方法と測定結果例を示します。

JIS規格<sup>2)</sup>では、風量直接測定器をBSCの排気口に取り付ける方法(1)を規準とし、前面開口部に風量直接測定器を取り付ける方法(2)、熱線風速計を用いる方法(3)のどれも規格に定めています。それぞれの関係をバリデートしていれば良いとしています。

実験では、前面開口部に負荷を与えるため、方法(1)で、規格通り5回測定した平均値から平均流入風速を算出します。

No.	前面開口寸法	風量測定結果(m <sup>3</sup> /min) ※演算→					平均値	平均流入風速測定値(m/s)
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目		
—	250mm	11.1	11.2	11.2	11.2	10.8	11.10	0.569

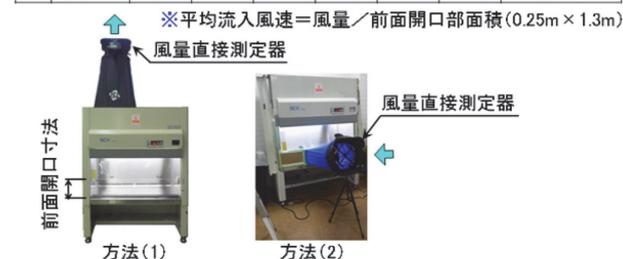


図5. 平均流入風速の測定方法と測定結果例

### 表示動作の確認結果

表1に試験結果を示します。項目毎に解説します。

初期状態は、定期点検時に平均流入風速を測定し、デジタル風速表示値を測定結果に合わせて校正した状態です。前面開口寸法は、BSC 使用時の 250mm の状態です。この状態から、各条件の平均流入風速の測定と、デジタル風速表示値を確認します。

表1、条件(1)の吸込みグリッドにノートを置いた状態を図6に示します。吸込みグリッドにノートを置くことで吸込み風量が下がり、平均流入風速測定値は、0.569から0.537m/sに下がります。デジタル風速表示値も0.57から0.54m/sに下がっています。このようにデジタル風速表示値は、実際の平均流入風速の変化を捉えていると言えます。

しかし、表示する風速は平均値です。図6の状態はエアバリアが局部的に破壊し、病原体等が漏洩する危険性があります。BSCは装置の性能維持と正しい使い方、病原体等の漏洩を防止する装置です。

表1、条件(2)のHEPAフィルタ目詰まりを再現する方法を図7に示します。写真はカバーを取り外し、排気HEPAフィルタ一次側の加圧チャンバを外した状態です。目詰まり方法は、数枚の不織布を抵抗としてHEPAフィルタの一次側に取り付けました。排気HEPAフィルタの差圧計は、HEPAフィルタの一次側と二次側の差圧を表示します。

表1. デジタル風速表示動作の確認結果

条件	前面開口寸法(mm)	風量測定結果(m³/min)	平均流入風速測定値(m/s)	デジタル風速表示値(m/s)	排気HEPA差圧(Pa)
初期状態	250	11.10	0.569	0.57	71
(1) ノートを置く	250	10.48	0.537	0.54	70
(2) 目詰まり再現	250	10.34	0.530	0.53	89
(3) -0.05m/s 再現	250	10.14	0.520	0.52	67
(4) 排気口を塞ぐ	250	—	(0.00)	0.00	10
(5) シャッター全閉	閉	5.78	0.371	CLoS	45



図6. 吸込みグリッドにノートを置いた場合

比較のため、表1、条件(3)に平均流入風速を、選定風速値-0.05m/sを再現した状態を示します。この風速は、平均流入風速を0.05m/s低下させ「作業者の安全性」の気流バランス試験を評価した、病原体等は漏洩しない最低風速です。

条件(2)のデジタル風速表示値は0.53m/s、条件(3)は0.52m/sで、実際の平均流入風速の変化を捉えています。ここで、排気HEPAフィルタの差圧を比較すると、条件(2)は初期状態から上昇しているのに対し、条件(3)では低下しています。条件(3)の実験では、インバータでファン出力を下げますが、排気口に障害物が有るときなど、同様の現象になります。デジタル風速表示値だけではなく、排気HEPAフィルタ差圧計の指示値と合わせて判断することで、装置の状態を推定することが可能になります。

差圧計の指示値について補足します。差圧計の指示値が幾らになったらHEPAフィルタ交換かの問いが稀に有ります。BSCは差圧で性能保証しているのではなく、風速で性能保証しています。目安として、目詰まりで風速が低下したときの差圧を示すことは可能ですが、HEPAフィルタの交換は風速を測定して判断します。また、BSCのHEPAフィルタ差圧計は、数字の変化で管理してください。前回、使用したときと値が大きく変わっていた場合、何か起きていますので、BSCの周囲を含めて点検願います。

表1、条件(4)の密閉式ダクト接続での排気ダンパー閉状態を再現するため、排気口を塞いだ状態を図8に示します。排気口を板で塞いだため排気風量は、ほぼゼロになりデジタル風速表示値も0.00m/sで、警報が鳴動します。差圧計の指示値が0Paを示していないのは、板とBSCの僅かな隙間から空気が漏れているからです。

実験では密閉式ダクト接続を想定しましたが、

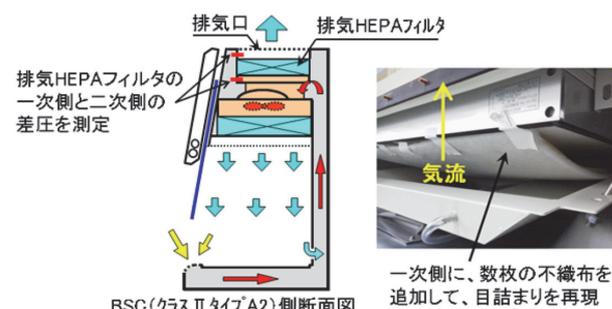


図7. HEPAフィルタ目詰まりの再現方法



図8. 排気ダクト接続時のトラブルを再現



前面シャッター全閉時は、風速表示と風速低下警報を解除

図9. 前面シャッター全閉時の風速表示

JIS規格<sup>2)</sup>、NSF規格<sup>3)</sup>ともタイプA2で少量の揮発性有害物質を取り扱う場合、開放式ダクト接続で室外排気すると規定しています。開放式ダクト接続の場合、排気ダクト、ダクトの排気ファンにトラブルが発生しても、室内排気によりBSCのエアバリアは確保できる構造です。

表1、条件(5)の前面シャッター全閉状態を図9に示します。前面シャッターを閉めることにより空気の吸込み口が無くなり、風量は低下します。風量がゼロにならないのは、隙間から少し空気を吸い込むからです。前面シャッター全閉時に吸い込み音がするのがこの風量です。実験に用いた前面開口部高さ250/200mm選択可能型BSCは、前面シャッター全閉時には、前面開口寸法200mmとして計算します。内部計算値は0.37m/sとなり風速低下警報鳴動のレベルです(警報の風速値は、各メーカー異なります)。しかし、前面シャッターを閉じた状態では、エアバリアが崩れたことを警告する必要はありません。実験に用いた機種は、前面シャッターを閉じたとき、「CLoS」表示で閉めたことを示し、風速低下警報を解除しています。

今回、流入風速表示について記載しましたが、

BSCでは、流入風速と作業空間への吹き出し風速のバランスが重要です。本装置は平均吹き出し風速を表示する機能も有しています。

### まとめ

以上のように、日立BSCを使用してデジタル風速表示の有効性をご紹介しました。有効性を維持するには、BSCの定期点検実施と、点検時の風速測定結果とデジタル風速表示値の整合確認が必要です。

更に、風速の変化を表示するデジタル風速表示と合わせて、差圧計により排気HEPAフィルター差圧の変化を管理することが有効です。

### 参考文献

- 1) 実験室バイオセーフティ指針—第3版, 世界保健機関(WHO), バイオメディカルサイエンス研究会(2004)
- 2) JIS K3800:2009, バイオハザード対策用クラスIIキャビネット, (財)日本規格協会(2009)
- 3) NSF/ANSI 49-2014, Biosafety Cabinetry, NSF International Standard(2014)

## ■セッションV

# 2) 二酸化塩素による安全キャビネットの除染

真家 未妃

日本エアーテック株式会社

### 1. はじめに

米国NSF/ANSI 49<sup>1)</sup>では、安全キャビネット(以下BSC)の除染法として、ホルムアルデヒド燻蒸法の他に2008年から二酸化塩素(Chlorine Dioxide、

以下CD)ガスによる除染法が追加されている。一方、日本のJIS K 3800<sup>2)</sup>では2009年版においてはホルムアルデヒド燻蒸法のみ記載であるが、今回の改正においてCDガス除染法が追加される見込み

となっている。

そこで本研究では米国製のCDガス除染装置を用いてBSC除染を実施し、除染効果及び除染の特性について知見を得たので報告する。またCDガスの腐食性に関しても検証を行った。

## 2. CDガス除染法 (NSF/ANSI 49-2014)

NSF/ANSI 49のAnnex G (参考) ではCDガス除染法として総量一定法と濃度一定法の2種を記載している。各方法におけるCDガスの注入量 (又は濃度)、及び維持時間を表1に示す。除染後はBSC内のCDガス濃度が短時間暴露限界値 (STEL) である0.3 ppm以下となるまで低減させる必要がある。

## 3. CDガス除染装置

実験には図1に示すCDガス除染装置 (DRS Lab-

表1. CDガスによる除染方法  
(NSF/ANSI 49-2014 Annex G (参考))

条件	方法1: 総量一定法	方法2: 濃度一定法
ガス発生	$V \times 4.7 \text{ g/m}^3$ [V: 容積 (m <sup>3</sup> )]	1) 3.0 mg/L (約1080 ppm) 2) 5.0 mg/L (約1800 ppm)
温度、湿度	15°C以上、60~85 %RH	
BSCのファン	ガス発生中は常時運転	
ガス発生中		
ガス発生終了後	維持中、15分毎に少なくとも1分間運転	
維持時間	85分	1) 60分 2) 45分
短時間暴露限界 (STEL) [0.3 ppm以下]	少なくとも30分の処理 ガス処理設備の能力による	



図1. CDガス除染装置 (MCS) 外観

oratories社、Mini-CD System、以下MCS) を使用した。本装置は総量一定法を採用しており、2種類の薬剤 (A、B) を水中にて混合しCDガスを発生させる。使用する薬剤量は、NSF規格に準拠するようBSCの容積に応じて表2に示す如く定められている。

MCSによる除染サイクルは表3に示す如く、加湿、除染、除去の3工程から成り、工程毎にMCS及びBSCファンの運転状況は異なる。また除去工程におけるCDガス低減には内蔵の活性炭フィルターを用いている。CDガスを発生させた水溶液には専用の中和剤を投入し、溶液内のCDを中和した後に廃棄する。

## 4. 所定条件下における除染検証

### 4.1 実験条件

実験室内は温度23°Cに調整し、相対湿度は成り行き (20~70%RH) とした。MCSとBSC (BHC-1307 II A2、容積1m<sup>3</sup>) を図2の如く接続し、BSCの作業室内には付属の加湿器を設置した。BSCの容積が1m<sup>3</sup>であるため、CD発生薬剤は表2より薬剤A、Bを各2袋使用した (1.7m<sup>3</sup>まで除染可能)。実験条件を表4に示す。

### 4.2 BIによる評価方法

除染の評価にはバイオロジカルインジケータ (Mesa Lab社、ACD/6、*Bacillus atrophaeus*、2.9×10<sup>6</sup> cfu、以下BI) を使用し、30~35°Cにて7日間培養して除染結果を判断した。

BIによる評価方法はNSF/ANSI 49-2014 Annex

表2. MCSにおけるCDガス発生薬剤の使用量

BSC内容積 (m <sup>3</sup> )	CD発生薬剤使用量
0~0.7	薬剤A、B共に1袋
0.7~1.7	薬剤A、B共に2袋
1.7~2.5	薬剤A、B共に3袋

表3. MCSの除染サイクル

サイクル	条件
1. 加湿	15~40°C、60~75%RH MCSのCD発生ファンとBSCファンを運転
2. 除染	0~30分 MCSのCD発生ファンを運転 BSCファンは10、20、30分後に2分間運転
	30~90分 MCSのCD発生ファン及び/又は BSCファンを15分毎に3分間運転
3. 除去	MCSの除去ファン及びBSCファンを運転 1300タイプ以下のBSCは少なくとも25分間 1600タイプ以上のBSCは少なくとも45分実施

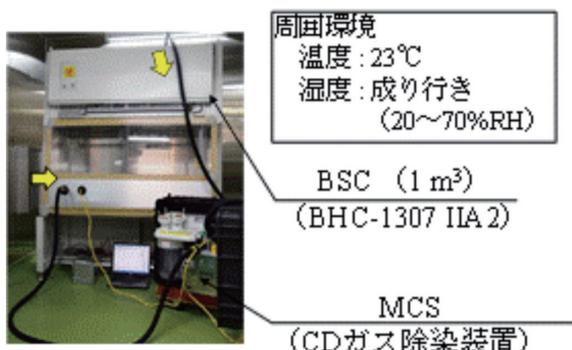


図2. 実験風景

表4. 実験条件

1) 庫内初期温度	23°C
2) 薬剤量	標準 (薬剤A、B各2袋。0.7~1.7 m <sup>3</sup> )
3) サイクル	表3の仕様に準じる (加湿、除染、除去) 周囲湿度は成り行き (20~70%RH)

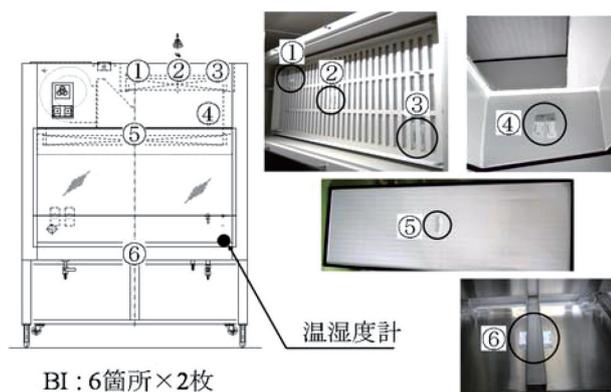


図3. BI及び温湿度計の設置位置

K (参考)「キャビネットの除染方法の評価」を参考とした。NSF規格ではBIを図3に示す6箇所(①~⑥)に各2枚設置する。2枚のBIの内、少なくとも1枚のBIが陰性となればその箇所は除染有効となる。6箇所全てが除染有効ならば除染成功、5箇所除染有効の場合は条件付成功となる。3回検証を実施し、全て除染成功であれば合格となる。また条件付成功を含む場合には、同一箇所を除染無効となっていなければ合格と判断する。尚、本報告では1回のみの検証結果について述べる。

また、温度・相対湿度計 (VAISALA社、HMT337) は図3の如く作業室内の右側面に設置した。

### 4.3 CDガス濃度測定方法

MCSは総量一定法による除染装置であるため除染サイクル中に濃度測定を行う必要はないが、除染工程中の庫内CDガス濃度を知ることは濃度一定法

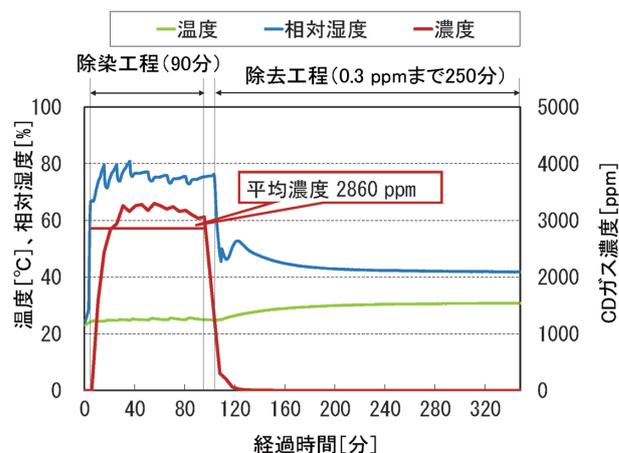


図4. 濃度及び温湿度の推移 (庫内初期温度23°C)

と比較する際の目安となる。本実験にて使用したCDガス濃度計 (ATI社、PortaSensII、C16-1) は測定レンジが0~20 ppmであったため、高濃度ガスの測定には希釈法を用いた。庫内のCDガスを5mL採取し、サンプリングバッグ内の一般大気 (1L) にて200倍に希釈後、濃度を測定した。

### 4.4 結果

庫内の温度、相対湿度及びCDガス濃度の測定結果を図4に示す。除染開始から約25分でCDガス濃度が3000 ppmを超え、除染工程における平均濃度は2860 ppmであった。除去工程を開始してから庫内の濃度が0.3 ppmに低下するまで約250分を要し、全工程は約5時間50分であった。

また、BIは6箇所全てにおいて2枚とも陰性であった。

### 4.5 考察

MCSは総量一定法による除染であるが、CDガス濃度3000 ppmに60分以上暴露していることが判明した。一方、濃度一定法では約1080 ppm (3.0 mg/L) で60分、約1800 ppm (5.0 mg/L) で45分を維持することより、総量一定法においては安全率を見込んだ濃度を確保していることがわかる。本実験にて使用した薬剤量にて1.7 m<sup>3</sup>の容積まで除染可能であることを考慮すると、1 m<sup>3</sup>のBSCを除染するには安全率が約3倍であり十分な量のCDガスを発生させていると推定する。

## 5. 各種条件下における除染検証

4項の結果より、MCSによるCDガス除染では安全率を高く見込んでいることが判明した。そこで除染に影響を与える要素を検証するため、1) 温度、2) 使用薬剤量、3) 除染サイクル (加湿工程の有無) を順次変更して4項と同様の実験を実施した。

表5. 温度変更時の実験条件

1) 庫内初期温度	15, 38℃
2) 薬剤量	標準 (薬剤A, B 各2袋。0.7~1.7 m <sup>3</sup> )
3) サイクル	表3の仕様に準じる (加湿、除染、除去)

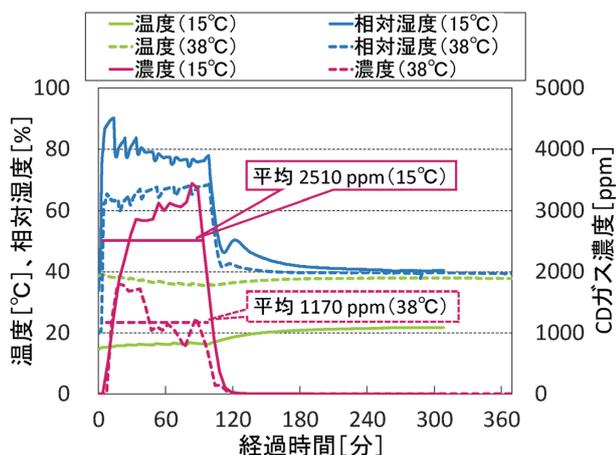


図5. 温度変更時の濃度及び温湿度の推移

表6. 薬剤量変更時の実験条件

1) 庫内初期温度	23, 38℃
2) 薬剤量	標準の半分 (薬剤A, B 各1袋。0~0.7 m <sup>3</sup> )
3) サイクル	表3の仕様に準じる (加湿、除染、除去)

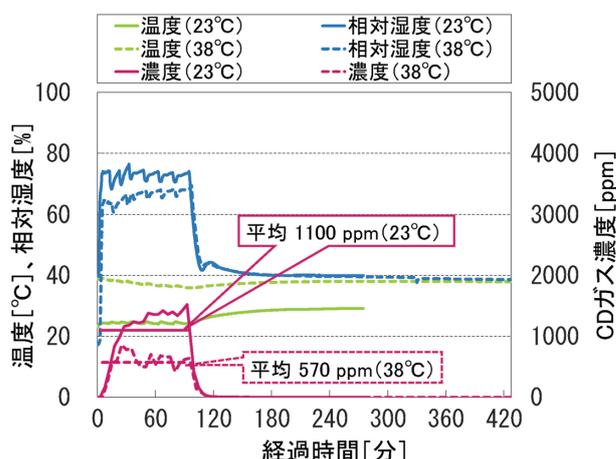


図6. 薬剤量半分時の濃度及び温湿度の推移

### 5.1 温度変更

本除染装置ではBSC庫内の温度範囲が除染時15~40℃であることから、庫内の初期温度が15℃又は38℃の場合においても除染可能であるか検証した。薬剤量、及び除染サイクルは4項と同様である。

表5の実験条件に基づき測定した結果を図5に示す。15℃では濃度の立ち上がりが緩やかであったが、最終到達濃度は約3200ppmとなり23℃の場合とほぼ同等であった。しかし低温条件では相対湿度が上昇しやすいため、腐食の懸念からも加湿工程を短くするなどの湿度管理が必要である。

一方、庫内の初期温度が高い場合、最大濃度は2000ppmに到達せず、23℃のときよりも約1000ppm低くなった。薬剤の溶解も早く、除染工程中は庫内が白く曇っていたため、高温によりCDガスの分解が促進されている可能性がある。

BIはいずれの条件でも全箇所において2枚共に陰性であった。本BSCの容積では安全率が十分確保されているため、温度等の影響により濃度が上昇しにくい状態であっても除染できたと推定する。

### 5.2 薬剤量変更

本実験に使用したBSCは1m<sup>3</sup>であり、標準の薬剤量にて1.7m<sup>3</sup>まで除染できることを考慮すると、安全率が十分確保されていると推定できる。そこで表6の如く薬剤量を標準の半分とし、温度23℃及び38℃にて除染効果を検証した。

表7. 除染サイクル変更時の実験条件

1) 庫内初期温度	23, 38℃
2) 薬剤量	<ul style="list-style-type: none"> <li>標準 (薬剤A, B 各2袋。0.7~1.7 m<sup>3</sup>)</li> <li>標準の半分 (薬剤A, B 各1袋。0~0.7 m<sup>3</sup>)</li> </ul>
3) サイクル	加湿工程無し (除染、除去のみ)

23℃、38℃の測定結果を図6に示す。薬剤量を半分とすると23℃における最大濃度は約1500ppmとなり、標準時の半分以下となった。また38℃においては、薬剤量を半分としても標準量の場合と同様に除染工程中の庫内は白く曇っていた。

尚、設置したBIはいずれの温度条件においても全て陰性であった。

### 5.3 加湿工程の有無

MCSの除染サイクルは最初に加湿工程にて湿度を調整する。そこで相対湿度による除染効果の影響を検証した。表7に示す温度及び薬剤量にて加湿工程を行わずに除染サイクルを実施した。

CDガスは水溶液から発生させているため、加湿工程を行わなくても相対湿度は上昇したが、どちらの温度条件においても、加湿工程を行った場合よりも10~15%RH低くなった。

除染工程中の平均湿度、平均濃度の測定値、及びBIの結果を表8に示す。薬剤量が標準、及びその

表 8. 加湿工程無し時の BI 結果

薬剤量		標準		標準の半分	
初期庫内温度[°C]		23	38	23	38
平均湿度[%]		56.2	40.9	53.9	41.7
平均濃度[ppm]		2860	1790	1070	310
①	排気HEPA 2次側	左	◎	◎	◎
②		中	◎	◎	◎
③		右	◎	◎	◎
④	汚染陽圧部		◎	◎	◎
⑤	給気HEPA 1次側		◎	×	◎
⑥	作業台下 シンク部		◎	○	◎
合否		成功	条件付成功	成功	不成功

◎：2枚とも陰性、○：陰性と陽性 各1枚、×：2枚とも陽性

半分のどちらにおいても、初期温度が23℃、平均湿度が50% RH以上ではBIが全て陰性となり、温度38℃、平均湿度40% RHでは一部のBIが陽性となった。また、平均濃度が高くても相対湿度が低い場合に陽性となるBIがあるため、CDガス除染では相対湿度による影響が大きいと推定する。

## 6. 腐食実験

CDガスの腐食性を検証するため、実験室内の温度23℃、湿度は成り行きとして、表9に示すサンプル部材に対して腐食実験を実施した。

### 6.1 実験条件

1サイクル分のCDガスは濃度と時間の積であるCT値にて設定した。4項の結果にて初期温度23℃、薬剤標準量における除染工程の平均濃度が2860 ppmであったことより、

1サイクルのCT値は

CT値：2860 ppm × 1.5 h = 4300 ppm · h  
とした。

全6回実験を行い、合計20サイクル分（半年に1回の除染で10年分）のCDガスに暴露した。

### 6.2 結果と考察

約20サイクル分のCDガスに暴露してもBSCの

表 9. 腐食実験の対象部材

製缶部材	SUS304 (HL、2B、#400)、SUS430、SECC、アルミ (アルマイト処理)、亜鉛メッキ鋼板、塗装鋼板 (溶剤焼付塗装 [エポキシメラミン])
樹脂・ゴム	塩ビ、アクリル、ポリカーボネイト、樹脂チューブ、スポンジ/ゴム (EPDM、クロロプレン、シリコン、フッ素)、コーキング剤、HEPAフィルターなど
継手・金属	配管部材 (鋳物、銅)、継手、ナット、ボルト、ガスバーナーなど
電気・配線	防滴コンセント、殺菌灯、配線材、端子台、端子、コネクタなど

基本的な動作に影響は見られなかった。

しかし、下記の部材に関しては腐食の懸念があるため注意が必要である。

- 1) 表面処理のない鋼板 (端面など)、鋳物の配管部材 (ネジ部) は錆
- 2) 一部の銅、真鍮は15サイクル以上で緑青
- 3) ポリカーボネイトなど一部の樹脂では着色
- 4) EPDMスポンジ、クロロプレンスポンジは収縮
- 5) ウレタン樹脂 (HEPAフィルターの接着剤) は変色

## 7. 結論

- 1) CDガスを用いて総量一定法によるBSC除染を実施し、その有効性を確認した。
- 2) CDガスによる除染には相対湿度の調整が重要である。
- 3) 腐食しやすい部材は、塗装処理や材質変更が必要である。

## 参考文献

- 1) NSF/ANSI 49「Biosafety Cabinetry : Design, Construction, Performance, and Field Certification」(2014)
- 2) JIS K 3800「バイオハザード対策用クラスIIキャビネット」(2009)

■セッションⅦ

## 実験動物のバイオセーフティ —施設・設備について—

吉田 一也  
ダイダン株式会社

### 1. はじめに

実験動物を取り扱うバイオセーフティ実験施設では、実験動物や飼育ケージ内が病原体などに汚染されている。飼育ケージ内の粉塵などは病原体が付着している可能性が高い。この粉塵などは感染性エアロゾルとして拡散しやすい状態にあり、施設内外を汚染するリスクが非常に高い。特に実験動物を保管しそれを扱う Primary Enclosure から、室内環境である Secondary Enclosure への感染性エアロゾル拡散に対しては厳重に対策しなければならない。このような施設では、実験作業だけでなく実験動物を維持管理するために給餌、給水や床敷交換などの作業が頻繁に行われ、その作業により感染性エアロゾルが拡散する機会が多くなる。また、生きた動物を扱うことから、作業区域からの逃亡防止にも配慮が必要である。病原体に汚染された実験動物が逃亡することによって、Secondary Enclosure での汚染リスクが一気に高まる。そして、実験従事者が動物を取り扱う作業時には咬傷や搔傷を負う可能性もある。これらは実験従事者にとって大きなリスクである。このようなことから、実験動物を扱うバイオセーフティ実験施設では、起こり得るあらゆるリスクを想定しそれらに対する十分な対策が必要である。

また、実験動物に対しては、動物福祉に配慮した動物の維持管理、および取り扱いに注意しなければならない。

ここでは、実験動物を取り扱うバイオセーフティ実験施設の施設・設備に関する留意点を示す。

### 2. 汚染リスク対策（室内および装置の陽圧化防止）

空調設備は Primary Enclosure と Secondary Enclosure の封じ込め機能を維持するための重要な役割を持っている。空調設備の中でも換気装置は、施設内の空気を封じ込めるために給排気量のバランスにより室内の圧力を周辺区域より陰圧に維持して

いる。また、継続的にこれを維持するために電源の安定供給が必要であり、非常用電源などの設備を設けて停電などによる設備の運転の中断を防ぐ備えが必要である。

換気装置の中でも排気系の装置は重要である。排気ファンを二重化しておき故障時にはただちにバックアップ機が起動できるようにする。排気ファンを二重化したシステムにおいては、故障時にバックアップ機が直ちに機能しないと室内が陽圧になるので、バックアップ機へ切り替える時の陽圧化を防ぐ対策が必要である。図1は切り替え時の瞬時ににおいても陽圧化を防止する例である。排気量100%の排気ファンを3台設置し、そのうち2台常時運転しておき、室内からの排気以外にバイパスダンパーから100%風量を吸い込み、排気装置は200%の状態でも運転しておく。ファンが故障した時にはその信号を受けてバイパスダンパーを瞬時に閉鎖し、室内からの排気風量を維持して室内が陽圧になることを防止する。さらに3台目の排気ファンを起動しバイパスダンパーを開放して排気ファンのバックアップ運転を開始する。

図2は実験動物用アイソレータを使用した場合のフロー図である。給排気ファンを備えたこのような

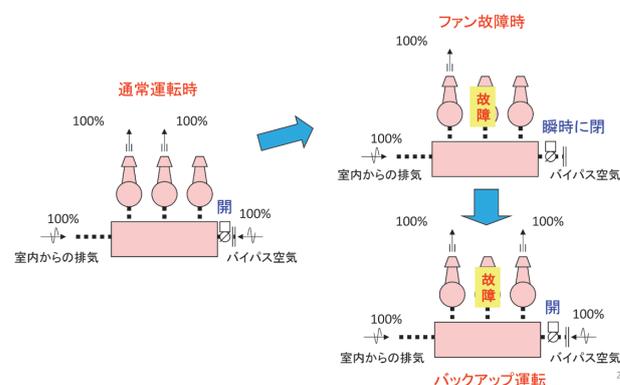


図1. 排気ファンのバックアップシステム例

装置では建物側の排気系統が故障した場合、直結した排気ダクトが装置からの排気を飲み込めず給排気バランスが崩れ、それにより装置内が陽圧になり室内を汚染する可能性がある。アイソレータなどの Primary Enclosure が陽圧になると感染リスクは非常に高くなる。この対策として、アイソレータなどからの排気と建物側の排気の接続部分を間接的に排気することにより、装置からの排気風量が維持されアイソレータなどの内部の陽圧化を防止できる。図2では建物側と装置からの排気ダクトの接続を多孔板で製作されたボックスに接続してある。建物側の排気ファンが故障して排気を飲み込めない状態になった場合でも、装置内が陽圧になるのを防ぐことができる。また、室内に逃がされる排気はHEPAフィルターにより処理されるため汚染は防止される。

実験動物の飼育装置では、図3に示す IVC (Individual Ventilated Cage System) が飼育ケージ単位で封じ込めができる装置として有用である。密閉で

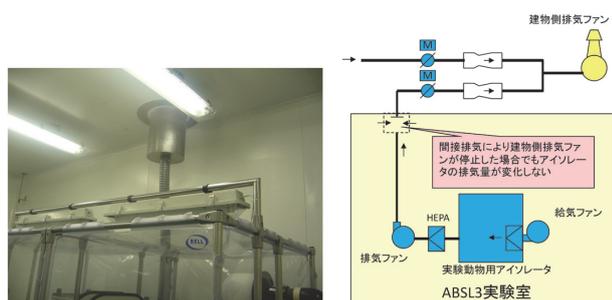


図2. 装置排気系統のリスク対策



図3. IVC (Individual Ventilated Cage System)

きるケージ内を強制的に換気する装置で、ケージをラックから取り外した状態でも封じ込めを維持できる構造となっている。

### 3. 逃亡防止対策

病原体で汚染された実験動物の逃亡は Secondary Enclosure の汚染リスクを非常に高めることになる。たとえば、地震などにより飼育ラックが転倒すると大量に動物が逃亡することになる。これを防止するために、飼育ラックには図4のような建物の壁や床に固定ができる装置を設けておく必要がある。ただし、飼育ラックは清掃作業などの時に移動することがあるので、容易に固定金物を外すことができる構造にする必要がある。また、動物が逃亡した場合でも逃亡した動物を直ちに捕獲できるように、室内は動物が隠れる部分を無くすなどの配慮が必要である。

### 4. 実験動物による被傷害対策

実験動物の取り扱いにおいて、咬傷や搔傷によるリスクや使用する鋭利なものによる負傷のリスクがある。これらの傷害を想定した実験従事者の個人用保護器具 (PPE) の整備と実験手技の習熟が重要である。

また、施設・設備については、実験動物のストレスが増すことを防止するために、頻繁に温湿度が変化することの無いように安定的な制御をできるようにし、照明のちらつきを防止し、騒音や振動を抑制するよう配慮が必要である。

### 5. 動物福祉

「動物の愛護及び管理に関する法律」(環境省)により、「動物を科学上の利用に供する場合は、できる限り動物を供する方法に代わり得るものを利用する (Replacement)」、「できる限り動物の数を少なくする (Reduction)」、「できる限り動物に苦痛を与えない方法によって行う (Refinement)」の 3Rs の



壁固定の例

床固定の例

図4. 飼育装置の耐震固定例

原則に沿って実施しなければならない。

また、実験中は各種ガイドライン<sup>1),2)</sup>に示されている適正な環境で実験動物を保管する必要がある。施設・設備については、適切な大きさのケージを用意し、温湿度の適正制御や騒音振動の抑制などを継続的に実施しなければならない。そのためには飼育機材の整備、設備の制御システムの整備、および設備を継続的に機能維持するための保守点検の実施が重要である。

## 6. まとめ

実験動物を取り扱うバイオセーフティ実験施設では、施設・設備に関して以下の点に注意が必要である。

- (1) 一般のバイオセーフティ実験施設と比較して施設内外を汚染するリスクが高いので、あらゆる角度からリスクを想定し、そのリスクに対する対策をハード面・ソフト面において準備しな

なければならない。特にソフト面においては、設備の運転や非常時の対応に関する教育訓練、および保守・点検等の計画が重要である。

- (2) 生きた動物を扱うことから実験動物の逃亡防止や実験動物から被る傷害に対してそれを防止する備えが必要である。
- (3) 動物福祉に配慮した計画・設計・維持管理が必要である。

## 文献

- 1) Committee to Revise the Guide for Care and Use of Laboratory Animals, Institute of Laboratory Animal Resources (2011). Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council. 米国
- 2) 日本建築学会編 (2007). 最新版 ガイドライン実験動物施設の建築および設備 (第3版). アドスリー. 東京

## トピックス

# アメリカ大陸におけるジカウイルス感染症の流行

西條 政幸

国立感染症研究所ウイルス第一部

### はじめに

近年、国際社会に大きな影響を与える新興・再興ウイルス感染症の発見が相次いでいる。その代表例が、2003年に中国南部を源として発生した重症急性呼吸器症候群 (severe acute respiratory syndrome, SARS) であり、2012年に中東で流行が初めて確認された中東呼吸器症候群 (Middle East respiratory syndrome, MERS) である。SARSおよびMERSは、どちらも動物由来コロナウイルスによる感染症であり、致死率が極めて高く、それぞれ中国および中近東で流行する感染症であると同時に、流行地以外の地域でも散発的流行の原因となる。

1976年にコンゴ民主共和国および南スーダンで初めて存在が明らかにされたエボラウイルス病の流行は、これまでアフリカ中央部で発生し続け、その規模は最大でも約400人であった。ところが2014年から2015年にかけて西アフリカ (ギニア、シエラレオネ、リベリア等) において大規模エボラウイルス病流行が発生するまで、累積患者数が約28,600人に達するエボラウイルス病流行が起こるとは、全く予想されていなかった。

そして、2014年から蚊媒介性ウイルス感染症の一つであるジカウイルス感染症が、これまで流行地ではなかったアメリカ大陸で流行しはじめた。ジカウイルス感染症以外にも、新規にアメリカ大陸で流行しはじめた感染症として西ナイルウイルス感染症 (脳炎)、チクングニア熱が挙げられる。

本稿では、アメリカ大陸で流行しはじめたジカウイルス感染症 (ジカウイルス先天性感染症を含む) の大規模流行の背景、今後求められる対策について個人的な見解を含めて解説したい。

### ジカウイルスとは

ジカウイルスは1947年にウガンダのジカ森林公園のサル (黄熱に関する研究のためのおとりサル) から初めて分離されたウイルスである<sup>1)</sup>。日本脳炎ウイルスやデングウイルス、西ナイルウイルスと同様にフラビウイルス科フラビウイルス属に分類され

る。これまでアフリカ、東南アジアでヒトと蚊の間で維持されていたウイルスである。人はウイルスを有する蚊 (ネッタイシマカ、ヒトスジシマカ等) に咬まれて感染する。2015年からアメリカ大陸で流行するまで、ジカウイルス感染症が常在する地域は、基本的にはアメリカ大陸を除くネッタイシマカの分布する地域に限られていた。1970年代にアフリカのナイジェリアで実施されたジカウイルス感染症に関する貴重な研究成績が発表されている<sup>2)</sup>。この論文によると、軽度の発熱性疾患患者からジカウイルスが分離され、約40%の住民がジカウイルスに対する中和抗体を有していた。少なくともアフリカの一部では多くの人々がジカウイルスに感染している。ジカウイルス感染症は、アフリカやアジア (特にネッタイシマカとヒトスジシマカがともに生息している地域) では以前から継続的に流行している感染症であると考えられる。

### アメリカ大陸でのジカウイルス感染症の流行と背景

ジカウイルス感染症が2007年にミクロネシア (Yap島) で流行したことが報告された<sup>3)</sup>。次いで2013年フレンチポリネシアでの流行が報告され、この流行は2007年から続いていたと考えられている<sup>4,5)</sup>。そして、2015年にブラジル (中南米) における流行がはじまったと報告される<sup>6)</sup>。この報告によると2015年に人と蚊の間でジカウイルス感染環が成立した上での流行がアメリカ大陸ではじまったと考えられる。ジカウイルスには大まかに二つの遺伝子型 (アフリカ型とアジア型) がある。アメリカ大陸で流行しはじめたジカウイルスの遺伝子型はアジア型である。

アメリカ大陸で生活しているほとんどの人々はジカウイルスに対する抗体を有していなかった。抗体陰性の人々が生活している地域にネッタイシマカ、ヒトスジシマカといった媒介蚊が生息していて、そのような環境の中にウイルスに感染した人を介してウイルスが侵入した。蚊と人との間でウイルス感染

環が成立した。アフリカやアジアのジカウイルス感染症流行地と異なり、現在の流行がはじまるまでは、アメリカ大陸で生活しているほぼすべての人々が抗体陰性であったことから、全年齢層がジカウイルス感染症に感受性を有しており、アメリカ大陸でのジカウイルス感染症は全年齢層の感染症として流行した。これがジカウイルス感染症の中南米における大規模流行の理由の一つである。

### ジカウイルス感染症の臨床症状

多くはジカウイルスに感染しても症状を呈しない(不顕性感染)。症状を呈する場合には、発熱、眼窩痛、発疹、頭痛、リンパ節腫脹等が出現する。

### ジカウイルス感染症と先天性感染症

ブラジル等の中南米でのジカウイルス感染症流行の発生と合わせて、中南米(特にブラジル)において小頭症を有する新生児が増加した。ジカウイルス感染症と胎内における先天性感染との関連が疑われるようになった。ブラジルにおいて妊娠し出生した小頭症患者の脳組織や胎盤組織からジカウイルス遺伝子やウイルス抗原が検出され、その関連がほぼ証明された<sup>7)</sup>。ジカウイルス感染症と先天性胎内感染による小頭症(中枢神経障害を伴う)との関連を支持する報告が相次いでいる。先天性ジカウイルス感染症の病態や予後、臨床症状は小頭症という病態に代表されるわけではなく多彩である<sup>8)</sup>。

### 今後求められる課題

今後、ジカウイルス感染症の詳細な疫学調査の実施や迅速診断法の開発が求められるのは論を待たない。本来ジカウイルス感染症は無症候性であったり、症状が出たとしても軽いことから、抗ウイルス薬による治療の対象疾患にはならない。先天性胎内感染

を予防するにはワクチン開発が急務となる。今後のアメリカ大陸におけるジカウイルス感染症の流行状況の推移を継続して調べるとともに、アジアやアフリカでの流行状況についても詳細に調べることが求められる。

母子感染の疑いのある妊婦への支援(検査のあり方、フォローアップのあり方を確定し、相談体制の整備する)、先天性ジカウイルス感染症に罹患している子供たちや家族への支援、等の社会福祉的な支援体制の強化が求められる。

ワクチン開発に基づく母子感染を予防する方策の開発が求められることを強調したい。

### 参考文献

- 1) Dick GW, et al. Zika virus isolation and serological specificity. *Trans Royl Soc Trop Med Hyg* 46: 509-520, 1952
- 2) Fagbami AH. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. *J Hyg* 83: 213-219, 1979
- 3) Duffy MR, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* 360: 2536-2543, 2009
- 4) Cao-Lormeau VM, et al. Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerg Infect Dis* 20: 1085-1086, 2014
- 5) Ioos S, et al. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med Mal Infect* 44: 302-307, 2014
- 6) Zanluca C, et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 110(4): 569-572, 2015
- 7) Mlakar J, et al. Zika virus associated with microcephaly. *N Engl J Med* (in press)
- 8) Brasil P, et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro - Preliminary Report. *N Engl J Med* (in press)

## 総説

# ボルナウイルスとバイオセーフティ

牧野晶子、朝長啓造

京都大学ウイルス研究所ヒトがんウイルス研究分野

### 1. はじめに

一本鎖マイナス鎖の RNA をゲノムにもつモノネガウイルス目に属するボルナウイルス科ボルナウイルス属のウイルスは、長い間、ウマやヒツジに致死性の脳脊髄炎（ボルナ病）を引き起こすボルナ病ウイルスだけと考えられていた。しかしながら、2008年にオウム目の鳥から鳥ボルナウイルスが発見されて以降、多様な種類の鳥類、爬虫類、そしてエキゾチックアニマルから遺伝子型の異なるボルナウイルスの同定が相次ぐようになった。特に、2015年にドイツにおいて致死性脳炎を発症した3名の高齢者の脳から同定されたカワリリスボルナウイルスは、ペットとして飼育されていたカワリリス（Variegated squirrel）から伝播したとして注目された。本稿では、古典的なボルナ病やボルナ病ウイルスの性状に加え、鳥ボルナウイルスやカワリリスボルナウイルスを含む新興ボルナウイルスの人獣共通感染症として潜在性について、最近の研究報告をもとにバイオセーフティの観点より紹介する。

### 2. ボルナ病とは

ボルナ病は古くは17世紀頃からドイツにおいて、ウマに致死性の脳脊髄炎や亜急性髄膜炎を引き起こす風土病であった。ボルナという名は本病が流行していたドイツのザクセン州にある町に由来する。ボルナ病の病因であるボルナ病ウイルス（Borna disease virus: BoDV）は神経指向性であり、BoDV感染個体は主に中枢神経の疾患を呈する。BoDVに自然感染したウマやヒツジの臨床症状は多様であり、急性脳炎、慢性脳炎、行動異常、運動失調、視覚障害などを呈することもあれば、症状を示さないこともある。急性感染した個体の致死率は、ウマでは80-100%、ヒツジでは約50%である<sup>1)</sup>。BoDVの感染モデル動物は主にラットであり、新生仔または成体に接種することにより上述した多様な臨床症状が再現されている<sup>2)</sup>。一方マウスは新生仔期に接種すれば感染は成立するものの、成体のマウスは

BoDVに抵抗性または感染しても無症状であり、株化細胞においてもマウスは本ウイルスに低感受性である。BoDVのマウスへの順化には、ウイルスの転写複製に働くRNA依存性RNAポリメラーゼ（RdRp）であるL遺伝子の2アミノ酸と、補因子であるP遺伝子の1アミノ酸が関与することから、BoDVの宿主特異性はウイルスの転写複製過程において規定される傾向があると考えられている<sup>3)</sup>。急性のボルナ病を呈したウマの病理組織学的解析では、細胞性免疫を介した散在性髄膜脳脊髄炎像が認められ、炎症性細胞の浸潤や広範な神経細胞侵食とグリオーシスが観察される。BoDV感染により惹起される脳炎や髄膜炎には、CD8陽性T細胞がN遺伝子中の<sub>129</sub>TELEISSI<sub>136</sub>配列を認識することでヘルパーT細胞依存性に活性化される免疫反応が深く関わっている。

BoDVは高等生物であるアカゲザルやコモンツパイにも感染性を示し、BoDVが持続感染した個体はヒトの精神疾患に類似した行動異常を呈する。1980年代、精神疾患を持つ患者からBoDVに対する抗体が検出されたことを契機に本ウイルスのヒトに対する病原性が注目された。しかし2000年代の大規模な疫学調査により、精神疾患の患者群と対照群の間の抗BoDV抗体陽性率に有意な差はないことが明らかとなった。この調査では定量RT-PCR法により血清および白血球中のBoDVのNまたはP遺伝子のRNA配列の検出も試みられたが、396検体中1例からも検出されなかった。

BoDVの診断は抗BoDV抗体の検出によりおこなわれるがその抗体価は極めて低い。抗体の検出にはELISA法、ウェスタンブロッティング法、間接蛍光抗体法が用いられている。日本において継続的にBoDVのヒト疫学調査をおこなっている松永らのグループは、感度と特異性の高いradioligand assayを用いてヒト抗BDV IgG、IgA、IgMを検出している<sup>4)</sup>。BoDV感染の確定には、剖検脳組織中のウイルスRNAのRT-PCR法による検出、免疫組

織化学染色によるウイルス抗原の検出がおこなわれる。BoDV 感染個体では中枢神経組織においては高い力価のウイルスが検出されるが、血中のウイルス量は極めて低いまたは含まれないことから、血清からのウイルス RNA の検出は困難である。

### 3. ボルナウイルスの性状

BoDV の形態は直径が約 100-130 nm の球形粒子で、複製複合体であるリボヌクレオ蛋白質 (RNP) が、宿主細胞由来の脂質二重膜であるエンベロープに包まれた構造をしている。エンベロープには膜蛋白質である G が突き刺さり、またマトリックス蛋白質である M が膜を裏打ちしている。RNP はウイルスゲノム RNA、ゲノム RNA を覆うヌクレオ蛋白質である N、RdRp である L、補因子でリン酸蛋白質である P から構成される。BoDV のゲノム RNA は非分節の一本鎖マイナス鎖 RNA であり、上記の 5 遺伝子以外に粒子には取り込まれないがウイルスの転写複製を負に制御する機能を持つ X 遺伝子を含めた 6 遺伝子をコードする ORF を持っている。BoDV は非分節の一本鎖マイナス鎖 RNA をゲノムに持つモノネガウイルス目の中でも独自の感染様式を持ち、1998 年にボルナウイルス科が新設された。

BoDV は細胞非傷害性に核内に持続感染するという特徴を持つ。BoDV 感染細胞中のウイルス RNP は、宿主のヘテロクロマチン蛋白質である HMGB1 への結合を介して分裂期においても染色体に接合している。これによって分裂後の娘細胞の核内にも BoDV の感染が維持されると考えられている。BoDV の HMGB1 への結合は P 蛋白質の 84 番目のグルタミン酸が関与し、同アミノ酸変異ウイルスの増殖は著しく抑制される。BoDV の感染環においてウイルスゲノムの転写複製は、感染細胞の核内に形成されるドット状構造体でおこなわれると考えられている。このドット状の構造体は viral speckles of transcripts (vSPOT) と呼称され、vSPOT には N および P 蛋白質、ウイルスのゲノムおよびアンチゲノム RNA、そして上述の HMGB1 が局在している<sup>5)</sup>。

BoDV の mRNA の転写はアンチセンスであるウイルスのゲノム RNA を鋳型としておこなわれる。BoDV のゲノムには 2 箇所のスプライシングドナーサイトと 3 箇所のスプライシングアクセプターサイトがあり、M、G、L の mRNA は宿主の RNA スプライシング機構を利用して発現する。ウイルスゲノムの複製は、ゲノム RNA を鋳型として全長のアン

チゲノムが合成された後、アンチゲノム RNA を鋳型としてゲノム RNA が合成される。

BoDV のゲノムには 6 つの ORF があるが、そこから翻訳される蛋白質は少なくとも 9 種類存在する。N と P には 2 番目の開始コドンから翻訳されるアイソフォームがあり、N の ORF からは p40 (全長) と p38、P の ORF からは P と P' が翻訳される。また L は全長以外にスプライシングバリエーションの mRNA から p165 が翻訳される。これらのアイソフォームを含めた 9 種類のウイルス蛋白質のうち、p38、G 蛋白質以外の 7 種類は核内移行シグナル (Nuclear localization signal: NLS) もしくは NLS と推定される配列を持つ。また p40、p38、P、P'、X、M 蛋白質には核外輸送シグナル (Nuclear export signal: NES) または NES と推定される配列が含まれる。これらの NLS と NES が複合的に働くことによりウイルス RNP の核内輸送および子孫 RNP の核外輸送がおこなわれると考えられている<sup>6)</sup>。細胞外へのウイルス粒子の放出は BoDV 感染細胞では著しく抑制されており、ウイルス粒子が細胞内へ侵入するよりも、感染細胞 - 非感染細胞間の接着を介した伝播のほうが BoDV 感染の拡大効率は高い。

BoDV の感染性は 56°C での熱処理、pH 5.0 以下の酸処理で消失する。ウイルス粒子がエンベロープを持つため有機溶媒や界面活性剤の処理により感染性が失活する。また UV 処理に感受性を示し不活化される。他のウイルスと同様にホルマリンや塩素系消毒剤で迅速かつ完全に感染性が失活する。研究室では高压滅菌器による不活化が通常用いられる。

### 4. ボルナウイルスの人獣共通感染症としての潜在性

BoDV の宿主域は広く、自然感染が報告されている動物は、ウマ、ヒツジ以外の家畜ではウシ、ヤギ、ロバ、アルパカ、愛玩動物ではネコ、イヌ、野生動物ではウサギ、キツネ、ヤマネコ、ニホンザル、トガリネズミ、アライグマ、鳥類ではダチョウ、マガモ、カラスがいる。特にトガリネズミ科のジネズミ属の *Crocidura leucodon* は、BoDV に自然感染すると無症状のまま感染性のウイルスを排出する。また BoDV 感染が確認されてから 250 日後の *C. leucodon* においても、唾液、皮膚、涙液、糞尿中にウイルス RNA が検出される。さらにドイツではウマにボルナ病が流行した地域と *C. leucodon* の生息域が重なり合っていることから、本動物は BoDV のレゼルボアであると考えられている。動物からヒトへ BoDV が伝播したという報告はないが、BoDV

に感染したダチョウに暴露されていたヒトから抗BoDV抗体が検出されたというケースが1例報告されている<sup>7)</sup>。

2008年に腺胃拡張症を呈したオウムのメタゲノム解析により、新しいボルナウイルスが同定されて以降、オウム以外の鳥類からも次々と新しいボルナウイルスが分離され、現在16の遺伝子型が発見されている。BoDVの1種のみで構成されていたボルナウイルス科の分類は2014年に改定され、BoDVを含む哺乳類1ボルナウイルス (*Mammalian 1 bornavirus*)、オウムボルナウイルス (Parrot bornavirus: PaBV) を含むオウム目1ボルナウイルス (*Psittaciform 1 bornavirus*)、カナリアボルナウイルス (Canary bornavirus: CnBV) やキンパラボルナウイルス (*Munia bornavirus: MuBV*) を含むスズメ目1ボルナウイルス (*Passeriform 1 bornavirus*)、水禽1ボルナウイルス (*Waterbird 1 bornavirus*)、カエデチョウボルナウイルス (*Estrildid finch bornavirus: EsBV*) を含むスズメ目2ボルナウイルス (*Passeriform 2 bornavirus*) の5種がボルナウイルス属へ新たに加わった (表1)。またコブラ科1ボルナウイルス (*Elapid 1 bornavirus*) の1種が unassigned bornaviruses に、ウイルスの配列情報が不足している PaBV-5、PaBV-6 などの遺伝子型は tentative, unclassified bornaviruses として分類された (表1)。腺胃拡張症を呈した鳥類から鳥ボルナウイルスは同定されたが、無症状の鳥からも本ウイルスは分離されている。各国でおこなわ

れている野鳥と愛玩鳥の疫学調査では、PaBV-4が最も多く検出されている遺伝子型であるため、知見の蓄積が多い。PaBV-4をオカメインコへ接種した実験で腺胃拡張症が再現されたことから、PaBV-4は本疾患の病因となりうることが明らかとなっている。一方、PaBV-4感染オカメインコ中には無症状のまま経過する個体もいたことから、PaBVはBoDVと同様に感染個体に多様な臨床症状を惹起することが示唆されている<sup>8)</sup>。

ボルナウイルス属はウイルスゲノムの塩基配列の系統解析により、哺乳類1ボルナウイルスからなるクレード1と、スズメ目1ボルナウイルス、スズメ目2ボルナウイルス、水禽ボルナウイルスで構成されるクレード2と、オウム目1ボルナウイルスからなるクレード3に大別でき (図1A)、クレード1とクレード2は近縁であることが明らかとなっている (図1B)。実際、培養細胞を用いた検討では、クレード2のウイルスであるEsBVとCnBVは哺乳類細胞に感染性を示すが、クレード3のPaBV-2、-4は哺乳類への感染性を示さない。鳥ボルナウイルスの哺乳動物への感染性および病原性は未知であり、さらなる詳細な解析が必要であるが、クレード2の鳥ボルナウイルスは人獣共通感染症となる潜在性を持っていると考えられる。

さらに2015年には、人獣共通感染症とヒトへの病原性が示唆される新規のボルナウイルスが発見された。この新しいボルナウイルスは2011-13年にかけて原因不明の進行性脳炎または髄膜脳炎で亡く

表1. ボルナウイルス科の新しい分類

目	科	属	種	ウイルス
モノネガウイルス	ボルナウイルス	ボルナウイルス	哺乳類1ボルナウイルス	BoDV-1
				BoDV-2
			オウム目1ボルナウイルス	PaBV-1
				PaBV-2
				PaBV-3
				PaBV-4
				PaBV-7
			スズメ目1ボルナウイルス	CnBV-1
				CnBV-2
				CnBV-3
				MuBV-1
			水禽1ボルナウイルス	ABBV-1
			スズメ目2ボルナウイルス	EsBV-1
			コブラ科1ボルナウイルス	LGSV-1
		Unassigned bornavirus		ABV-MALL
		Tentative, unclassified Bornaviruses		GaBV-1
				PaBV-5
				PaBV-6

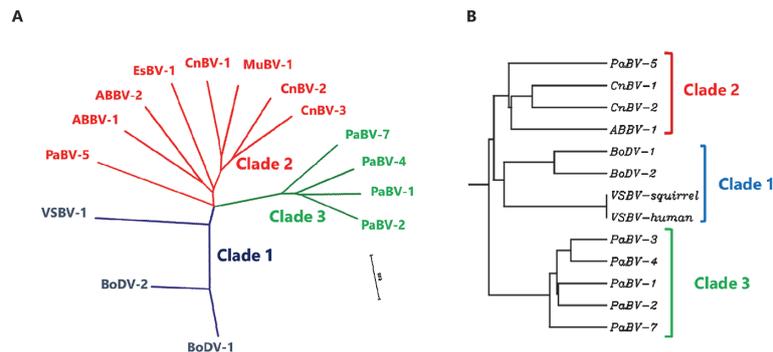


図1. ボルナウイルス科ボルナウイルス属の系統解析  
 ボルナウイルスのN、X、P、M、Gの蛋白質コード領域およびLの蛋白質コード領域の一部を元に作成した A. 無根系統樹 B. 有根系統樹

なった3名の高齢男性から検出されたものであった。患者Aは63歳で2011年11月に急性脳炎を発症した。発症から三ヶ月で死亡している。62歳の患者Bは2013年6月に急性脳炎を発症し約2ヶ月で亡くなった。2013年11月に発症した72歳の患者Cは髄膜脳炎を発症し約4ヶ月で亡くなった。3名の患者らはカワリリスのブリーダーであり、友人として交流があった。また、カワリリスのつがいを交換して繁殖をおこなっていた。カワリリスは英語表記が Variegated Squirrel、学名が *Sciurus variegatoides* のげっ歯目リス科リス属の動物であり、見た目の愛らしさからペットとして飼育されている。その主な生息地はコスタリカやエルサルバドル、パナマなどの中米である。

飼育されていたカワリリスのうち、患者Cと直接接触のあった健康な個体の組織検体のメタゲノム解析により、未知のボルナウイルス様配列のRNAが検出された。さらに患者AとBのホルマリン固定パラフィン包埋された脳組織および患者Cの新鮮凍結脳組織、血清、脳脊髄液からもほぼ同一の配列を持つRNAが検出された。BoDVのPまたはXに対するポリクローナル抗体を用いた、患者らおよびカワリリスの脳組織切片の免疫組織染色では、ウイルス抗原陽性であった。この新規ボルナウイルスはカワリリスボルナウイルス、Variegated Squirrel Bornavirus (VSBV)、と命名され、ORF全長の系統解析により従来のBoDVとは別の種であることが明らかとなった(図1)。VSBVの遺伝子配列は全長が解読されているが、未だウイルスは分離されていない。

報告によると、VSBV陽性カワリリスはオスで、恐らく2007年頃に患者Bが飼育していたカワリリスの中で生まれ、2010年からは患者Cにより飼育

されていた。患者Cがカワリリスを飼育していた小屋は、それ以前は鳥類の飼育に用いられていた。患者のうち2名は過去に飼育するカワリリス(VSBV陽性であるかは不明)にひっかかれた経験があり、1名は噛まれたことがあった。VSBV陽性カワリリスにおいて、中咽頭でのVSBVのRNA量が高かったことから、咬傷を介して感染カワリリスからヒトへ伝播した可能性が考えられる。VSBVに関する論文は現時点では1報のみであり、その病原性および感染経路等、更なる研究が必要である。

### 5. ボルナウイルスの伝播様式とバイオセーフティ

BoDVは鼻汁、唾液、腸内容物に感染性ウイルスが排出される。この排出された感染性ウイルスが個体へ直接接触することにより、ウイルスの伝播は起こりうる。しかしBoDVが自然感染したウマやヒツジなどの個体間で効率の良い伝播がおこったという報告はなく、上述したように *C. leucodon* などのレゼルボアを介して主に伝播すると考えられている。オカメインコを用いた同居個体間のPaBV-4の伝播の研究では、同ウイルスの個体間伝播は観察されていない。垂直感染はBoDVでは経胎盤感染がウマやウシにおいて報告があり、鳥ボルナウイルスでも感染鳥が産んだ発育卵にウイルスRNAが検出されている。BoDVと鳥ボルナウイルスはバイオセーフティレベル2の実験室の安全キャビネット内で取り扱われており、VSBVもそれに準じた扱いになると考えられる。

### 6. おわりに

古くから存在することが示唆されているBoDVに加え、鳥ボルナウイルス、カワリリスボルナウ

ルスが発見され、単一の遺伝子型だと考えられてきたボルナウイルス科に多様性があることが明らかとなった。新興ボルナウイルスには未だ不明な点が多いが、BoDV 研究で得られた知見を元にバイオセーフティに取り組み、ボルナウイルスの理解を深める研究を進めていきたい。

#### 参考文献

- 1) Jordan I, et al: Borna disease virus. *Rev. Med. Virol.* 11: 37-57, 2001
- 2) Narayan O, et al: Behavioral disease in rats caused by immunopathological responses to persistent Borna vims in the brain. *Science.* 220: 1401-1403, 1983
- 3) Ackermann A, et al: Adaptation of Borna disease virus to new host species attributed to altered regulation of viral polymerase activity. *J Virol.* 81: 7933-7940, 2007
- 4) Matsunaga H et al: Isotype analysis of human anti-Borna disease virus antibodies in Japanese psychiatric and general population. *J Clin Virol.* 43: 317-322, 2008
- 5) Matsumoto Y, et al: Bornavirus closely associates and segregates with host chromosomes to ensure persistent intranuclear infection. *Cell Host Microbe.* 11: 492-503, 2012
- 6) Honda T, et al: Nucleocytoplasmic shuttling of viral proteins in borna disease virus infection. *Viruses.* 5: 1978-1990, 2013
- 7) Kinnunen P, et al: Epidemiology and host spectrum of Borna disease virus infections. *J Gen Virol.* 94: 247-262, 2013
- 8) Kuhn JH, et al: Taxonomic reorganization of the family Bornaviridae. *Arch Virol.* 160: 621-632, 2015
- 9) Hoffmann B et al: A variegated squirrel bornavirus associated with fatal human encephalitis. *N Engl J Med* 373: 154-162, 2015

# 特集 結核

## 結核特集について

木ノ本 雅通  
元国立感染症研究所

結核は、エイズ、マラリアと並び長期間にわたり、世界の三大感染症の一つに位置づけられている。世界保健機関（WHO）の発表によると、2014年の世界の結核患者数は1740万人、新たに発病した患者は960万人、死亡数は150万人などと推計されている。ここに含まれる日本の結核概況は、患者（有病者）が約5万人、発病者は約2万人、死亡者は約2千人などと報告されている。これらの数値に示されるとおり、世界には依然として多数の結核患者と発病者及び死亡者があり、決して過去の感染症ではないことが分かる。

これらの詳細については別に述べるが、一例を示すと、世界でいま発病者が最も多い地域はアフリカと南東アジアで、総数の約70%がこの両地域で発生している。

また、罹患率（発病率）で20年前と現在を比較すると、世界の結核患者は増減を繰り返しながら増えており、油断できない状況にある。さらに結核のみならず感染症を取り巻く環境に不安を抱かせる様々な問題が横たわっているいま、改めて感染症対策に強く取り組むことが求められている。

このような現状を踏まえ、バイオセーフティに視点を置いた「結核特集」を編集することとし、結核の数ある課題の中から本誌の読者が身近に感じられる以下の7テーマについて各専門家に分かり易く解説していただく。

はじめに「結核の過去と現在」で結核の歴史と統計を眺め、関連法律と基礎的なバイオセーフティの概要を述べ、「結核菌の検査」では最近の結核菌検査事情と医療機関におけるバイオセーフティの現状について課題を含めて解説する。「結核の診断薬」では結核の感染を知るための診断薬である「IGRA（イグラ：Interferon Gamma Release Assay）」について感染経路を遮断する手段のひとつとしてバイオセーフティの観点を交えて考えたい。「薬剤耐性結核菌」では超多剤耐性結核菌などの重要問題を取り上げ、新しい抗結核薬の開発研究の状況と将来の展望を説明する。また基礎研究に深く関わる分野では「BSL3実験室における結核菌の安全取り扱い技術と防護具」について実際の実験作業で心がけなければならないこと等を解説する。さらに結核の院内感染や集団感染などに伴って行う遺伝子型別検査や、より高度な薬剤感受生試験が求められるときに結核菌が輸送されることがあり、その際の基準を「結核菌の保管と運搬」で触れる。最後に「HIV感染症と結核」のテーマでは、結核の制圧に大きな問題となってHIV感染と結核の関連等について解説する。

以上、本結核特集が広く関係者の結核に対する再認識と新たな知識の習得に役立ち、併せてすべての感染症対策のヒントになることを心から願っている。

（平成28年1月）

結核特集企画協力 木ノ本雅通

# 結核の過去と現在

木ノ本 雅通

元国立感染症研究所

## 1. はじめに

結核が再興感染症に位置づけられてから久しいが、未だ世界の三大感染症の一つに加えられているほど流行している。この現状に対して国際的な結核対策は世界保健機関（WHO）が中心になって進めている。当然のことながら、日本においても結核の撲滅活動は古くから続けられているが、現在も「結核の中進国」といわれている状況である。

結核を減らすために重要なことは結核を正しく理解することが基本であり、そのためには、まず結核の過去を知り、現状と将来を考えることであろう。

本稿はこれを視野に置いて、古代から近代における結核の歴史を眺め、統計資料に基づく国内外の結核状況や、国内の結核対策に不可欠な関係法規及び結核を絡めたバイオセーフティの基礎の一端を述べる。

## 2. 結核史略と考察

近年の考古学的研究によって結核が古代から現代に延々と繋がっている感染症である数々の証拠が報告されている。それらはイスラエルで発掘されたBC7000年ころの二体の人骨やエジプトのBC6000年ころの女性の脊椎に見られた結核カリエスの痕跡などのほか、ヒポクラテスが書き残した肺結核の記述あるいは中国及び韓国等で発掘されたBC後期からAC初期にかけての人骨にも結核の痕が見られたなどの海外例がある。

一方、日本では縄文遺跡（BC8000年～BC300年）の人骨に結核を示す痕跡が見られた例はなく弥生時代（BC300年～AD300年）から古墳時代（AD300年～AD500年）の人骨からはそれが認められている。このことから、日本における結核は長い時間を経て大陸からの渡来人によってもたらされたものと考えられている<sup>1)</sup>。

このような結核の真の起源は知る由もないが、バイオセーフティの観点から興味深いことは、これらの証拠から結核のいくつかの特徴が推測できることである。例えば、「胸椎や脊椎などの骨に痕跡が見られること」、「肺ペストのように急激に患者を増やして高い致死率をもたらさないこと」、「膨大な数の

感染源（感染者）が存在しているものの発病数が比較的少ないこと」などが考えられる。

近代における結核の世界的流行は、急速な都市化をもたせたイギリスの産業革命（18世紀半～19世紀）以降とされている。日本でも人の往来が頻繁になった江戸時代（1603～）から明治（1868～）、大正（1912～）、昭和（1926～）の時代へと近代化が進むにつれて結核が蔓延し、多数の患者と死者が発生した。ただし、結核が流行する原因は近代化だけにあるのではなく、他の多くの要因もあることを付記しておく。

このような時代背景の中、1882年にドイツのローベルト・コッホ（Robert Koch, 1843～1910）によって結核菌の発見が報告（1881/8/18研究着手、1882/3/24演説、4/19論文出版）されて結核の原因が明らかとなり、結核研究の進展と科学的根拠に基づく感染症対策へ世界は歩みはじめた。

因みにコッホが研究を開始した当時、人類の全死亡例の7分の1は結核によるものであり、この3分の1は生産活動に携わる中年層だったという<sup>2)</sup>。

なお、コッホの業績は結核菌の発見のみならず、現在のバイオセーフティ技術の基礎をなす「高圧蒸気滅菌器（コッホの蒸気釜）」の発明や細菌芽胞を認識した滅菌及び消毒条件などのほか、細菌染色、検鏡、動物実験等の手技にも道を開いたことを関係者は忘れてはならない。

## 3. 結核の統計

結核の国際統計はWHOが公表している「Global Tuberculosis Report」に掲載されている。この統計は毎年約200カ国から報告される結核データが集積され、それに詳細な分析や展望が加えられているものである。

本項ではその中から主要なデータを抜粋し「世界の結核」とし、また、後述する「日本の結核」では厚生労働省及び結核予防会の発表データを引用し、記述する。

なお、文中の「率」は、すべて「人口10万対」の数値とする。

### 3-1 世界の結核

図1は、世界の結核罹患率（発生率）の推移を、WHOの6地域別に1986年から2014年まで4年毎の数値で示したものである。

図に見られるとおり、世界の結核はヨーロッパ及びアメリカ地域を除き、1998年以降増えており、地域格差が大きいことなど分かる。このように推移するなかでWHOは将来、結核死が増加すると予測し、1993年に「結核非常事態宣言」を世界に発し、結果対策の強化推進を促した。これによりその直後は、一部地域を除いて一時的に罹患率の改善はみられたが、1994年から再び増加に転じ、全体としてそれが現在も続いている状況である。そして2014年は世界で960万人（男性540万人、女性320万人、小児100万人）の結核患者が新たに発生した、と

WHOは報告している。この数を図2に示す地域別割合（%）で見ると、結核患者の大部分（約70%）は南東アジア（41%）とアフリカ（28%）の両地域で発生している。これを罹患率で表すと、最多はアフリカ地域の281（人口9.63億人）で、次いで南東アジア地域（人口6.4億人）の211、東地中海地域の117に続き、日本が属している西太平洋地域は85（人口18.45億人）などとなる。さらにこの罹患率を国別にみると、最多は南アフリカ国の834、次いでモザンビーク国の551、インドネシア国の399、カンボジア国の390など、以下、200～300の結核多発国がアフリカ、南東アジア及び西太平洋等の各地域を中心に20カ国程度存在している。

なお、2014年における世界の結核死亡数は150万人（HIV陽性含）と推計され、その85%はアフリカ

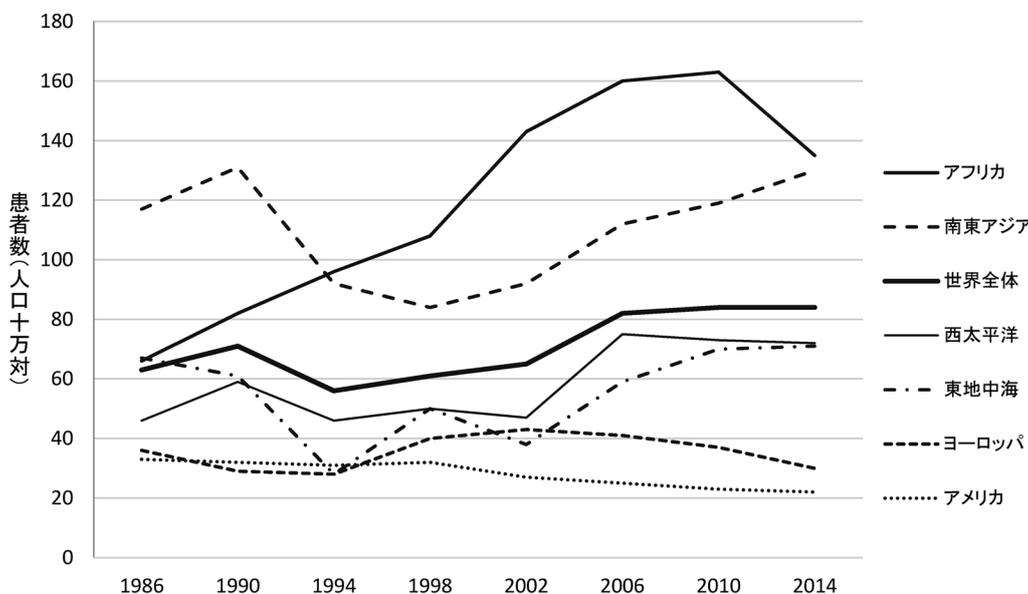


図1. WHO 地域別届出結核患者数の推移 (1986~2014)

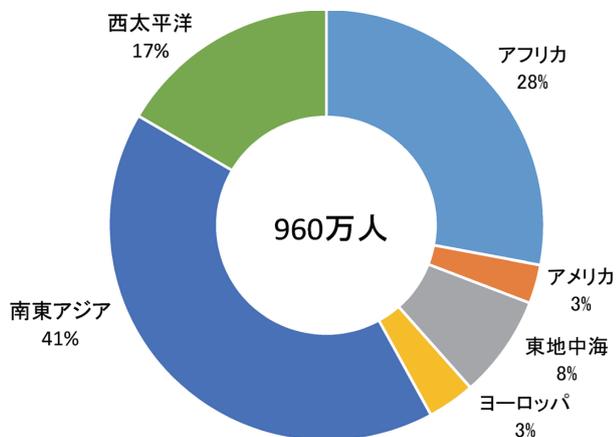


図2. WHO 地域別結核新患者数の分布 (2014)

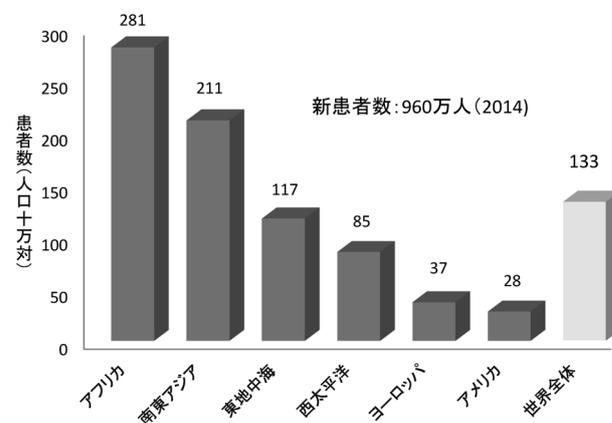


図3. WHO 地域別結核新患者数 (2014)

地域（75万人、率：78）と南東アジア地域（52万人、率：27）で生じている。

### 3-2 日本の結核

日本における結核の本格的流行は、明治時代後期に始まったとされている。図4及び図5にその当時から現在に至る結核の死亡率（人数）及び罹患率（人数）の推移を示す<sup>3)</sup>。

なお、下記文中の年数は和暦と西暦を併記する。

#### 1) 死亡率（人数）

今から115年前の明治33年（1900）は死亡者が約7万2千人、死亡率は163.7であった。以後、死

亡率は上昇を続け大正7年（1918）には257.1（14万747人）にまで達した。これをピークとして、昭和10年（1935）は死亡率が190.8（3万2,151人）に減少したが、翌年（1936）から再び上昇に転じ、昭和18年（1943）には235.3（17万1,474人）にまで増加し、1918年に次ぐ2番目の高さとなった。これは当年の総死亡数（約122万人）の14%に相当し、国民総人口（約7,288万人）の425人に1人が結核で死亡したという驚異的な数である。

昭和19年（1944）から昭和21年（1946）の3年間は、戦災等による資料の焼失などにより、示すこ

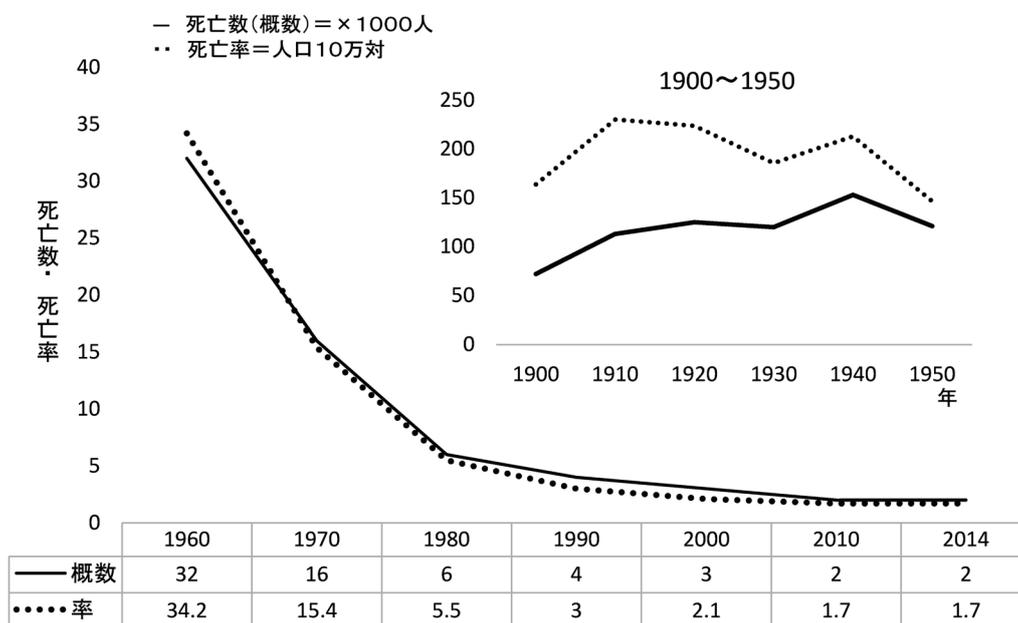


図4. 日本における結核死亡数・率の推移（1900～1950/1960～2014）

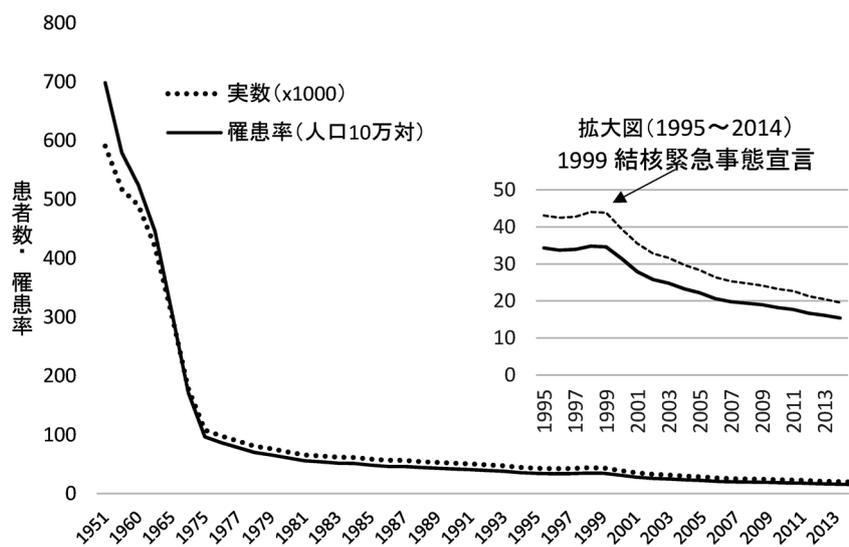


図5. 新登録結核患者数と罹患率の年次推移

とができるデータはないが、昭和22年(1947)の死亡率187.2(14万6,241人)を戦後最高値として、昭和27年(1952)までのわずか5年間に死亡率は82.2(7万558人)に半減した。さらに24年後の昭和51年(1976)は死亡率が8.5(9,578人)となり、昭和27年当時の10分の1にまで減少するなど日本の結核状況は急速に好転した。

因みに、この急速な減少が「日本には結核が無くなった」と錯覚させ、結核を油断する一つの原因になったかも知れない。

しかしながら、このように顕著な減少を示していた国内の結核死亡率は、図4に見られるように1980年前後から減少率に翳りが顕われ、2014年は死亡率が1.7、死亡数は2,099人、死因順位26位という現状である。

## 2) 罹患率(人数)

1951年から2014年までの結核患者数と罹患率の年次推移は図5に示したとおりである<sup>4)</sup>。

本図についての詳細は割愛するが、要点は①1951年の罹患率698.4(59万662人)は死亡率と同様に、24年後(1975年)には96.6(10万8,088人)に激減した。しかしその後は減少率が鈍化している。②1996年から1997年にかけて罹患率に増加の兆しが窺われたことにより、1999年7月26日に「結核緊急事態宣言」が発せられた。③以後、罹患率はわずかずつ低下し続け2014年は15.4となったが、これは米国の約5倍、カナダやドイツなどの約3倍に相当する高い数値である、などである。

なお、上記のデータを含む最近5年間の結核統計を表1に示し、考えられる問題点を整理すると、「単一の感染症で年間2000人の死亡者がある」、「約5万人の結核患者の存在と年間約2万人の新患者の発生がある」、「死亡の大多数が高齢者である」、「外国出生者及び医療従事者の結核がある」などのほか「国内における結核の地域差や集団発生」、「HIVなどの合併症」、「多剤耐性結核菌の発生と抗結核薬の開発」等に関する解決すべき課題が山積している。

## 4. 結核と関係法規

### 4-1 結核予防法

結核予防法は1919年(大正8年)に制定されたが、それ以前は1901年(明治34年)の「畜牛結核予防法」や1904年に公布された「痰壺条例(内務省令)」<sup>3)</sup>が結核対策の拠り所とされていた。

全国的な結核対策の取組みが強化されたのは、1938年(昭和13年)に厚生省(現厚生労働省)が設置され、翌年の結核予防会設立以後である。

当時の結核死亡率は前述のとおり、現在の100倍以上に相当する約200という高さであった。これが、結核の抗生物質やBCG接種(1948年制定の予防接種法に準拠)及び市民活動などの効果と相俟って1951年の結核予防法の改正で「健康診断の強化拡大」、「医療費の公費負担」等を内容とする施策が進められた結果、日本の結核状況は著しく改善された。

結核予防法は、以後も一部改正を重ねつつ2004年(平成16年)の大改正で、「BCG接種と健診の見

表1. 日本の結核統計(2010~2014)

区分	2010 (H22)	2011 (H23)	2012 (H24)	2013 (H25)	2014 (H26)
結核登録者数(人)	55,573	55,196	52,173	49,814	47,845
活動性結核患者数 (有病率:人口10万対)	17,927 (14.0)	17,264 (13.5)	14,858 (11.7)	13,957 (11.0)	13,513 (10.6)
新登録結核患者数(人)	23,261	22,681	21,283	20,495	19,615
外国出生結核患者数*	645	705	719	754	—
医療従事者の患者数**	564	673	636	581	—
罹患率*** (人口10万対)	18.2	17.7	16.7	16.1	15.4
結核死亡者数	2,129	2,166	2,110	2,087	2,099
死亡率(人口10万対)	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7

\* 29~39歳の患者数。(2013は、15~19歳患者が別に56人存在)

\*\* 医師・看護師・保健師・他の医療従事者の総数。

\*\*\* 欧米諸国の結核罹患率(2013年次): 米国2.8、カナダ4.7、イタリア4.9、オランダ5.0、ドイツ5.1、オーストラリア5.4、デンマーク5.9。

出典:厚生労働省「結核登録者情報調査年報集計結果(概況)」

直し]、「DOTS (Directly Observed Treatment, Short course, 直接服薬確認療法)」の推進等が条文に基本指針として追加された。

結核予防法は、平成10年10月2日に制定された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(「感染症法」と略)が平成18年(2006)に一部改正されて翌年の施行と同時に廃止され、感染症法へ統合された。その際、結核予防法の基本指針は感染症法の「結核に関する特定感染症予防指針」(平成19年告示、平成23年改正)に引き継がれた。また、結核予防法で施行されていた乳児へのBCG接種は予防接種法に統合された。

#### 4-2 感染症法(改正法)

平成18年に改正された感染症法(以下、「法」)の改正趣旨は「これまで研究者、施設管理者等の自主性に委ねられていた生物テロに使用されるおそれのある病原体等の管理について、法に基づき適正に行うことを主な目的であること。したがって、直接生物テロに使用されるおそれが低い臨床検体や、法による入院、消毒等の各般の措置が適用される感染症の患者や自然感染動物については、法律施行規則の対象としては想定していないものであること。」とされている<sup>5)</sup>。

つまり、バイオセーフティ及びバイオセキュリティの重要性和、喀痰等の臨床検体は法の規制対象外であることなどがここに明記されている。

法における結核の基本的位置づけは、感染症の分類では「二類感染症」、特定病原体等の種類では「三

種病原体等」又は「四種病原体等」のいずれかとなる。結核菌におけるこの種別は多剤耐性結核菌であるか否かにあり、前者は三種、後者は四種となる。

なお、多剤耐性結核菌の対象範囲は平成27年1月9日に公布された法改正により変更(拡大)され、平成27年5月21日から施行されている<sup>6)</sup>。

また、結核の医療に関しては「結核患者の医療」として費用負担が規定されているほか、感染症の分類を基準とした感染症指定医療機関で、厚生大臣指定の「特定感染症指定医療機関」と都道府県知事指定の「第一種感染症指定医療機関」及び「第二種感染症指定医療機関」などと並び「結核指定医療機関」が指定されている。(法第38条)

一方、バイオセーフティに深く関わる特定病原体等の管理等については、一種から四種の種別に30項以上の規制項目(法第56条)がある。ここではそのうち結核菌が対象となる三種及び四種病原体等の規制項目を抜粋し、表2にまとめた。

なお、表中の「施設の基準」及び「保管等の基準」については、省令で「施設の位置、構造及び設備の技術上の基準一覧」及び「病原体等の保管等の技術上の基準の一覧」として公表されているので参照されたい。

また、一種及び二種病原体等所持者に義務付けられている「感染症発生予防規程の作成」、「病原体等取扱主任者の選任および責務」、「教育訓練」等に関する規制項目は、三種及び四種病原体等の対象外となっているが、この種の病原体等を取り扱う施設は

表2. 感染症法における結核菌の管理に関する規制項目等(抜粋)

No.	規制項目	該当条文 第56条の	結核菌	
			三種	四種
1	所持の届出(7日以内)	16	○	—
2	輸入の届出(7日以内)	17	○	—
3	滅菌譲渡	22, 26	○	○
4	記帳義務	23	○	—
5	施設の基準	24	○	○
6	保管等(使用、運搬)の基準	25	○	○
7	運搬の届出(公安委員会)	27	○	—
8	事故届(盗取、所在不明等)	28	○	○
9	災害時の応急措置(地震、火災他)	29	○	○
10	報告徴収(輸入他)	30	○	○
11	立入検査(事務所、事業所)	31	○	○
12	改善命令(施設、保管基準等)	32	○	○
13	災害時の措置命令(保管、滅菌等)	37	○	○

(備考) 三種：多剤耐性菌 四種：非多剤耐性菌 ○：適用 —：適用外

管理体制の一環として自主的にこれらの規程を作成し、安全管理に努めるべきである。

## 5. バイオセーフティの基本と結核

本項ではバイオセーフティの原点を復習し、「感染症発生の3大要因」の観点からバイオセーフティの基礎となる一端を、「結核」を交えて考えを述べる。

### 5-1 用語と定義

「バイオセーフティ (Biosafety)」は「Biological Safety」の合成英語で「生物学的安全性」と和訳される。この用語は「生物災害」を意味する「バイオハザード (Biological Hazard) 防止対策」と同義である。よって通常は「バイオセーフティ」に「防止対策」を付けない。

バイオセーフティを論ずる際に、とすればウイルスや細菌類及び原虫類等の病原体のみに注意が傾けられるが、バイオハザードの対象は病原体のみならずその構成成分 (核酸やタンパク質等) や産生物質 (毒素や代謝物等) が含まれることに留意する必要がある<sup>7)</sup>。特に感染症法における特定病原体等の「等」を意味する毒素 (ボツリヌス毒素、志賀毒素) はヒトに甚大な健康障害をもたらす原因物質であるため深く注意しなければならない。

因みに、結核菌は毒素を産生しないが、結核の診断に用いられるツベルクリンは生体 (皮膚) に発赤、硬結、水泡あるいは壊死を惹起しうる結核菌の代謝産物であり、結核菌の菌体成分とともに現在も結核研究の対象物である。

### 5-2 感染症発生要因とバイオセーフティ

感染は「病原体要因」、「環境要因」、「宿主要因」の三大要因が連結し、いわゆる「疫学の三角モデル」<sup>8)</sup>を形成することによって成立することが知られている。したがって、感染を無くすにはこの三角モデルの一辺だけでも遮断できれば解決できるが、それを完全に実行するのは不可能である。よって、実際はこれら3要因のそれぞれに存在するリスクをいかに低減できるかがバイオセーフティの具体的目標となる。

#### (1) 病原体要因

病原体は、感染症を惹起する感染源であることを述べるまでもないが、感染の要因が病原体等の存在と病原性、免疫原性、感染量及び感染指数などにあることを考えなければならない。また感染を無くすための最終的手段が消毒や滅菌等にあることは確かであるが、バイオセーフティを実行する際は病原体のリスク評価が基本要件として不可欠である。

WHOは、実験室で病原体等を取扱う際のリスク

評価項目として、「病原性」、「伝播方式」、「宿主域 (人口、媒介動物、衛生状態等)」、「有効な予防法の利用 (予防接種、抗血清投与等)」、「有効な治療法 (暴露後の処置、抗菌剤等)」などを上げ、これらを考慮して各国で独自に病原体等のリスク評価を行い、以下のような4群に分類することを提唱している。

#### 実験室における病原体等のリスク群分類<sup>9)</sup>

- リスク群1: ヒトや動物に疾患を起こす可能性の無い微生物。
- リスク群2: ヒトや動物に疾患を起こす可能性はあるが、実験者及び実験関連者に重大な健康被害を起こす見込みの無い病原体。また、実験室内の暴露が重篤な感染を起こす可能性はあるが、有効な治療法や予防法が利用でき、感染が拡散するリスクが低い。
- リスク群3: ヒトや動物に重篤な疾患を起こすが、通常では感染した個体から他の個体への伝播の可能性が低い病原体で、有効な治療法や予防法が利用できる。
- リスク群4: ヒトや動物に重篤な疾患を起こし、感染した個体から他の個体への伝播が直接又は間接的に起こり得る病原体で有効な治療法や予防法がない。

病原体等は、このように評価されたリスク群に基づいてBSL1~BSL4に分類し、各レベルに対応する実験施設と設備及び安全機器等との整合性を図り、さらに病原体等の取扱いに習熟した技術によってバイオセーフティが成り立つ。

因みに、結核菌はリスク群3に分類され、実験室における取扱いはBSL3の要件を満たしていなければならない。

#### (2) 環境要因

環境要因となるものは、実に多い。例を上げると「地理、気候、動物、人口密度、人口増加、都市化、交通、産業、民族移動、衝突、戦争、家族形態、貧困等」の物理的、生物学的、社会経済的、政治的等のあらゆる環境が感染に関わる一般的要因になる。

一方、実験室におけるバイオセーフティの環境は、上記の環境要因に配慮しつつ前述した実験施設と設備及び安全機器等を整え、正しく使用することによって成り立つ。

このような環境要因に対するバイオセーフティの具体的手段は、物理的に感染経路を遮断することである。その方法として手洗いやマスクの着用が一般に知られているが、実験室においてはこれ以上の感染防止策を講じなければならない。その具体策として、実験室の構造は「二次バリア」として機能する

「P1～P4」に区分される「物理的封じ込め」(Physic Containment、P と略)方式を執る。また個人を主とした防護策は「安全キャビネット」(Biosafety cabinet, BSC と略)や「個人防護具 (PPE と略)」などを用いる「一次バリア」がある。

バイオセーフティが保証されるには感染経路と病原体等のリスクを判断し、これらを適切に使い分けることが必要である。

周知のとおり、結核菌は主に空気感染するので、これを実験室で取り扱う際は実験室を P3 仕様とし、個人防護も厳重にしなければならない。しかし、もしそうしなければどのような事態が生じるかを、臨床の場で動物を用いて実証した貴重な論文があるので参考のためにその一部を以下に紹介する。

#### 結核の感染<sup>10)</sup>

(下記は、Reily の論文を翻訳した青木の論文から抜粋し、ほぼ原文のまま転記したものである)。

[方法と材料] 結核患者を収容する病室を備えた病棟の屋上にモルモットの実験飼育室を作り、病室の空気を機械的にこの実験飼育室に導き、モルモットの結核感染状況を観察した。感染源は、6つの個室に次々と結核菌陽性の患者を収容し、検査が終われば抗結核薬を投与して、菌が陰性化する前に転室させ、常に菌陽性の患者がいる6室の空気がモルモットの飼育室に導かれるようにした。モルモットは毎月のツベルクリン皮膚反応によって陽転すれば剖検して結核感染を確認した。

[成績] 飼育されていたモルモット 120 匹のうち、2 年間に 63 匹のモルモットが感染した。この結果から、空気約 30 万 l 中に結核菌の 1 感染単位が含まれていたと算定された。

<計算式: モルモット 1 匹の呼吸量 (9 l/h) × 24h × 120 匹 × 365 日 × 2 年 = 1900 万 l

1900 万 l ÷ 63 = 30 万 l >

[考察] 算定された感染単位は、結核病棟の閉鎖循環システムで毎分約 6000 l の空気が外部から取り入れられていたので、これによって薄められた空気の感染単位の密度が約 30 万 l に 1 個になった。よって、もし換気が全く行われず、密閉されていたとすれば、感染の危険は 30 倍高かった。この空気体積 30 万 l に感染単位 1 個の状況を理解しやすいように具体的に示すと、縦横約 10m、天井の高さ 3m の比較的大きい部屋に相当し、一見、問題にならない感染単位量に思える。しかし、人の 1 回換気量を約 0.5 l として機械的に計算し、統計的要素を加味すると、仮にこの病棟で看護師が 1 日 8 時間の勤務を 3 日間すれば、およそ 6 割の看護師が感染すると

いう危険性の高い濃度といえる。

以上を内容とするこの論文は長期間にわたる動物実験で、結核菌が微量であっても空気感染によって結核が発症することを実証しており、結核のバイオセーフティを論ずる際の基本になるものと考えられる。

#### (3) 宿主要因

宿主要因は、個体、集団及び行動の 3 つのパターンに大別される。個体要因はさらに年齢、性別、生体防御能 (免疫) 及び栄養状態などが要因となり、集団的要因は集団の免疫状態や平均寿命が関わる。また行動的要因は、感染源への接触機会や病原体等の暴露及び伝播など実験作業に深く関わる要因がある。

これら要因への感染防止対策は大部分が一般の個人に帰するものであるが、バイオセーフティ関係者にとっては「免疫」についての専門的知識が必要と考える。よって、ここでは免疫学の基礎といえる「自然免疫」と「獲得免疫」及び「予防接種」について簡単に触れておく。

人は生れながらに備えている「自然免疫」と、生後に得た「獲得免疫」による感染防御システムがある。自然免疫は感染症に対して広い守備範囲をもつが、特異性は低くその免疫効果は特に強いものではないとされている。この例として、常在菌に対する抵抗性や唾液、胃液あるいは嘔吐、下痢などの生理現象も自然防御因子としてはたらいっている。獲得免疫は自然免疫とは逆に特異性が高く免疫力も強いが、範囲は限定される。この代表例としてワクチンによる予防接種がある。予防接種は獲得免疫を付与するために無くてはならない手段であるが、一種類のワクチンですべての感染症に有効なものはなく、またすべての感染症にワクチンがあるわけでもない。

現在開発されているワクチンの数は感染症の数に比べてはるかに少なく、2015 年 5 月現在日本で接種可能なワクチンは混合ワクチンを含めて 20 種類ある<sup>11)</sup>。うち予防接種法による定期接種は 11 種類、任意接種は 9 種類である。

結核の予防ワクチン (BCG) は定期接種に該当し、小児期に結核感染率が高いことから、2003 年の法改正により対象は乳幼児 (1 歳以下) のみとなった。因みに、日本における過去の BCG 接種対象は 1951 年から 1974 年までは 30 歳未満、その後、結核事情の好転に伴い中学生の年齢にまで引き下げられた経緯がある。この例のようにワクチンの予防接種は恒常的なものではないので常に最新情報の入手に努める必要がある。

なお、獲得免疫には生体の細胞（リンパ球等）がはたらく「細胞性免疫」と血液中に抗体として産生される「液性免疫」の二つの系統があり、結核免疫は細胞性免疫の代表格である。

ワクチンの研究開発は現在も世界各国で続けられ、将来も絶えることはない。しかし、ワクチンがBCGのような生ワクチンであれ、あるいは不活化ワクチンであれ、製造や研究検査等に際し、生きた病原体の取り扱い避けられないため、これら関係者のバイオセーフティは特に重要である。

## 6. おわりに

昭和10年（1935）から同25年（1950）までの15年間、日本人の死亡順位の第1位は結核であった。この間毎年12万人（率で200前後）以上が結核で死亡していたが、現在は約2千人（率で1.7）にまで減少した。また、罹患率も毎年僅かずつではあるが、減少し続けており、日本の結核はあと一息のところまできているといえる。しかし、結核は一国だけの問題ではなく国際交流が頻繁に行われている現在、結核が蔓延している他国の結核対策も極めて重要である。ここに日本が世界最速<sup>12)</sup>で結核を減らしてきた施策や技術を活かし、国内の結核撲滅と海外関係国の感染症対策に、より一層寄与すべきであろう。

## 7. まとめ

結核の歴史をはじめ世界及び日本における結核の死亡率や罹患率等の推移を資料に基づいて示した。また日本の結核対策に基本となる関係法規（結核予防法、感染症法）の一部について解説を試みるとともに、結核を想定したバイオセーフティの基本について考えを述べた。

## 参考文献

- 1) 加藤茂孝：モダンメディア（2009）55：321-333
- 2) トーマス・D・ブロック（長木大三／添川正夫 訳）：ローベルト・コッホ、シュプリンガー・フェアラク東京（1991）100-120
- 3) 結核統計総覧（1900～1992年）：結核予防会（1993）18-23
- 4) 結核の統計1997：結核予防会（1997）33
- 5) 厚生労働省健感発06010029号平成19年6月1日
- 6) 厚生労働省健感発0407第9号平成27年4月7日
- 7) 大谷明ほか：バイオハザード対策ハンドブック：近代出版（1981）3
- 8) 鈴木隆雄：骨から見た日本人、講談社（1998）131-168
- 9) 国立感染症研究所：国立感染症研究所病原体等安全管理規程（2010）13
- 10) 青木正和：結核（2005）80：401-411
- 11) 国立感染症研究所：日本の定期／任意予防接種スケジュール（2015）web site
- 12) 青木正和：結核（1993）68：533-538

# 結核の検査

## —バイオセーフティの実際—

御手洗 聡

結核予防会結核研究所抗酸菌部

### 1. はじめに

結核の感染リスクはある意味で地球上のどこにも存在する。結核関連のラボの専門家が集まって国際会議などしていると、よく言われるのが「結核の検査室の中より途上国の繁華街の方が結核感染リスクは高いのでは？」という冗談である。コミュニティでの感染リスクの方が高いのに、検査室内でいくら気を付けても仕方ないではないか、と言いたい？気持ちがあるのであろう。実際のところ冗談では済まない結核罹患率を示している国や地域もないわけではないが、ラボラトリー・バイオセーフティの目指しているところは「コミュニティリスクは（検査技師以外でも）みんな平等なのだから、少なくとも検査室内で“余計な”感染リスクを取らないように計画し行動する」ことである。この項では結核のバイオセーフティの実践的部分について概説してみたい。

### 2. 結核菌のバイオリスクアセスメント

世界保健機関（WHO）の分類によると、結核菌群の属するリスク群3のグループは「通常、ヒトや動物に重篤な疾患を起すが、通常の条件下では感染は個体から他の個体への拡散は起こらない病原体。有効な治療法や予防法が利用できる」とされている。これに対してリスク群4は「通常、ヒトや動物に重篤な疾患を起し、感染した個体から他の個体に、直接または間接的に容易に伝播され得る病原体。通常、有効な治療法や予防法が利用できない」と定義される。バイオセーフティレベル分類と病原体のリスク群分類とは相関するが必ずしも一致するものではない、と注釈がついている。

バイオセーフティレベル3扱いの病原体を世界保健機関的に型どおりのカテゴリー分けを行えば、基本的にP3（Physical containment 3）で取り扱うことになる。しかしながら、例えば単純な抗酸菌直接塗抹検査と液体培地による薬剤感受性試験を比較した場合、使用する菌量も手順も異なるため、両者が検査として同等の感染リスクとは考えられない。依って、本質的には以下に示すように「検査（ある

いは実験）の内容」を考慮した上で、どの程度の感染リスクが考えられるのかを評価するプロセス（バイオリスクアセスメント）を経てから実際の施設や手順のセーフティレベルを決定することになる。

#### 2-1 バイオリスクアセスメントの項目と評価

WHOのバイオセーフティガイドライン（第三版）<sup>1)</sup>あるいはTuberculosis Laboratory Biosafety Manual<sup>2)</sup>によると、バイオリスクアセスメントの項目はおおよそ以下の様になると思われる。

- (1) 対象とする病原体の病原性及び感染価
- (2) 感染が起こった場合の考えられる帰結
- (3) 感染経路
- (4) 二次感染経路
- (5) 環境中での病原体の安定性
- (6) 検体中の病原体量と生物活性
- (7) 適した宿主の存在
- (8) 動物での研究情報、実験室感染または、臨床疾患の報告
- (9) 計画されている実験室作業（超音波処理、エアロゾル化、遠心分離など）
- (10) 病原体の宿主域を広げたり、既知の効果的治療方式に対する病原体の感受性を変えたりする可能性のある微生物の遺伝子操作
- (11) 効果的治療法の有無

上記に沿って、結核菌（*Mycobacterium tuberculosis*）のバイオリスクを評価してみる。一方で本邦には「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（感染症法）があり、結核菌は特定病原体等（四種病原体等）に指定されているため、評価上は異なる取扱カテゴリーと考えられる場合があっても、最低四種病原体等の取扱基準は満たさなければならない。

（※）結核菌における三種病原体等の定義について  
多剤耐性結核菌は、結核の治療に主要な役割を果たしているイソニコチン酸ヒドラジド（イソニアジド）とリファンピシンに対して耐性を有する結核菌と定義されている。同定方法としては、日本結核病学会の指針が示す試験方法又は米国のCLSI（臨床

及び検査室基準設定機構) が示す試験方法による薬剤感受性試験に行うものとされる。三種病原体等に分類される多剤耐性結核菌の定義は、イソニコチン酸ヒドラジド、リファンピシンその他政令(令第1条の4) で定めるもの(オフロキサシン、ガチフロキサシン、シプロフロキサシン、スパルフロキサシン、モキシフロキサシン又はレボフロキサシンの何れかに耐性、かつ、アミカシン、カナマイシン、カプレオマイシンの3種類の薬剤のうち一種以上) に耐性を有するもの<sup>3)</sup>、となっているので、いわゆる超多剤耐性結核菌がこれに該当する。

(1) 対象とする病原体の病原性及び感染価

ヒト及び感受性のある動物に呼吸器を中心とする全身の感染症を惹起しうる。感染に必要な菌量は数百個程度と考えられるが、ID50<10 bacilli とする報告もある。動物により1~1,000 bacilli とされている<sup>2)</sup>。結核菌を吸入した個人の30%程度に実際の感染が成立すると考えられている。

(2) 感染が起こった場合の考えられる帰結

結核菌感染が成立すると、感染局所及び所属リンパ節に至る初感染病巣を形成し、ほとんどの場合はこの段階で終息する。その後結核菌側や宿主側の因子により約10~30%が発病し、残りは生涯発病しない。感染者の80%は感染後2年以内に発病するが、結核菌自体は潜在感染という形で生体内に残っているため、宿主の免疫状態によっていつ発病するかはわからない。免疫機能が低下している例では発病リスクが5~10%/年となる場合もある。未治療の場合、30~50%が死亡する。

(3) 感染経路

結核菌は、飛沫・空気(飛沫核)感染を主として呼吸器を中心とする臓器に感染する。エアロゾル感染であることから、基本的には室内で感染がおこると考えられ、解放空間で感染が発生することは考えにくい。

(4) 二次感染経路

多量の結核菌が正常でない皮膚に接触した場合や汚染した注射器による針刺しによっても、感染が成立する可能性がある。また、免疫不全状態が背景にある個人では、腸管から感染がおこることも考えられる。

(5) 環境中での病原体の安定性

環境中では急速に感染性を失う。直射光下ではおよそ2時間で死滅するとされている。

(6) 検体中の病原体量と生物活性

活動性結核患者から採取された喀痰には塗抹陽性度で2+程度を中心に様々な濃度で結核菌が含まれている。一般的に塗抹2+の検体で10<sup>6</sup>cfu/ml程度の結核菌が含まれている(表1)。ただし喀痰中の結核菌の活性は様々であり、一部は既に死菌あるいは休眠状態となっている。通常培養により発育する活性を有する結核菌の割合は20~50%程度と思われる。一方で対数増殖期(固形培地継代培養で3~4週程度)にあるような結核菌は、その殆どが活発に活動している。一般の臨床検体中の結核菌濃度はほぼ10<sup>7</sup>cfu/ml以下と考えられるが、検査室(実験室)中ではそれ以上の濃度で使用される可能性がある。

表1. 結核菌塗抹検査の陽性度とおおよその菌濃度

塗抹陽性度	ガフキー号数*	菌濃度 (cfu/ml)
-	0	≤3x10 <sup>3</sup>
±	1	3x10 <sup>3</sup> - 1x10 <sup>4</sup>
1+	2	1x10 <sup>4</sup> - 2x10 <sup>5</sup>
2+	5	1x10 <sup>6</sup>
3+	9	1x10 <sup>7</sup>

抗酸菌がどの程度の濃度で検出されるかは顕微鏡の性能にもよるため、必ずしもこの濃度になるとは限らない。

\*ガフキー号数：喀痰中の結核菌の量を表した数字で、0~10までの数字で表現する。数字が大きいほど濃度が高く、例えばガフキー0号は全視野(一般に1,000倍鏡検で300視野)に抗酸菌が認められない状態を示し、ガフキー10号は1視野に101以上の抗酸菌が観察される状態を示す。

- (7) 適した宿主の存在  
ヒトが固有宿主である。
- (8) 動物での研究情報、実験室感染または臨床疾患の報告  
結核菌塗抹検査を行う技師の結核発病の相対危険度が1.4 (95%CI 0.2-10.0) であるのに対して、結核菌薬剤感受性試験に従事する検査技師では21.5 (95%CI 4.5-102.5) というデータがある<sup>4)</sup>。世界的には途上国を中心として年間およそ900万人が結核を発病し、150万人が死亡すると推定されている。日本国内では2014年に19,615人の患者が発生しており、罹患率は15.4/10万人とされ都市部に多い傾向があるが、地域によって実際の罹患率は8.1~24.5と様々である<sup>5)</sup>。
- (9) 計画されている実験室作業 (超音波処理、エアロゾル化、遠心分離など)  
結核菌の一般的な検査手順は図1に示すとおりである。この手順から、一般検査室ではチューブ内での攪拌や遠心分離操作が行われるが、一部の実験室を除いて基本的に生菌に対して超音波処理やエアロゾル化が行われることはない。
- (10) 病原体の宿主域を広げたり、既知の効果的治療方式に対する病原体の感受性を変えたりする可能性のある微生物の遺伝子操作  
一般検査室では行われませんが、一部の特殊な実験室で実施される可能性がある。
- (11) 効果的予防法や治療法の有無

効果的予防法や治療法が現実に利用できるかどうかは問題である。ワクチンとしてBCGが利用できるが、成人での効果は証明されていない。発病予防のための潜在感染治療を実施することが可能であるが、一部の薬剤耐性結核菌については有効でない。多剤耐性結核菌以外の感染については、ほぼ定型的な治療法が確立している。多剤耐性結核であっても、フルオロキノロンなどの薬剤が感受性であり、手術が併用できれば予後は比較的良好である。しかし、超多剤耐性結核の場合は治療法が確立されているとは言えず、治癒率は30~40%程度と考えられる<sup>6)</sup>。

上記のアセスメントから考えると、結核の感染リスクを低下させるにはエアロゾルの発生を可能な限り抑えることが主要な対策であることがわかる。同時に、エアロゾルの発生が不可避な場合には、その吸入を防ぐ手立てが重要である。それらの程度 (エアロゾル発生量や潜在的吸入量) は実施する検査によって異なることも明白であり、結核のバイオセーフティレベルは検査ごとに異なることがわかる。

### 2-2 アセスメントに基づくバイオセーフティ対策

では、次に検査室内作業ごとの具体的な対策を考えてみたい。微粒子の分散系であるエアロゾルを発生させるには、物理的な力が作用する以下の様な作業が考えられる。それぞれの作業は結核菌検査手順では様々な組み合わせで使用される。

#### (1) 検体・培養容器の開封

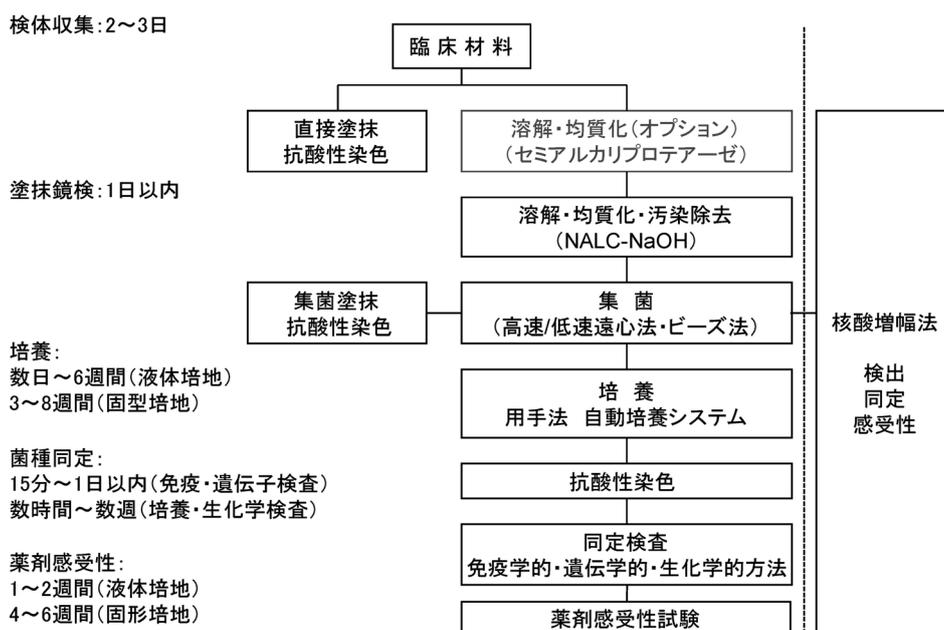


図1. 結核菌 (抗酸菌) 検査の一般の手順

病原体を含む検体や培養菌を含む容器は検査室に持ち込まれる途中において、振動等のエネルギー曝露を受けている。従って、容器を開けるだけでエアロゾルが発生（正しくは発生しているエアロゾルが拡散）する可能性がある。従って、結核菌を含む疑いのある検体（事前にはわからないのでつまりは全検体）は、少なくとも安全キャビネットの中で開封されるべきである。

#### (2) 火炎滅菌

汚染した白金耳を直接火炎滅菌すると、水分が激しく蒸発する際にエアロゾルを発生する。白金耳を使用する場合は、一旦エタノールの入った容器に白金耳の先を漬けて、十分に殺菌してから火炎滅菌を行う。しかしながら、安全キャビネット内で火炎滅菌を行うと内部の気流を乱し、適切な「封じ込め」状態が得られなくなることがあるので、現在では熱源の使用そのものが勧められない。可能な限り使い捨てループを使用すべきである。

#### (3) ピペッティング

病原体を含む液体を吸引あるいは排出するピペッティングはエアロゾルを発生する。特に「吐出し」は大量のエアロゾルを発生するので、実際には必要量よりもすこし余分に採り、必要量だけ使用して残りはピペットと共に滅菌缶へ捨ててしまう。可能な限り使い捨てピペットを使用する。

#### (4) 混合

液体を混合する場合（特にボルテックス混合）、必ず密閉状態で実施する。オープンな状態で病原体を含む可能性のある検体をボルテックス混合してはならない。薬剤感受性試験など均一な菌液を作成する場合に通常ボルテックス混合を行うが、例えば液体培地に菌塊を入れ、一夜 35℃で培養後、滅菌綿棒を使用し試験管壁に菌塊をこすりつけて均質化するなどの方法もある。混合直後は大量のエアロゾルが発生しているので、少なくとも 20～30 分静置してエアロゾルが落ち着くまで開封しない。

#### (5) 超音波処理

エアロゾル発生原因の代表格である。一般的な検査室では結核菌を含む検体に開放系で超音波処理を行うことはないと思われるが、核酸抽出などで超音波処理を実施することはありうる。基本的には超音波処理は殺菌処理後に実施する。バイオセーフティ上の問題とは異なるが、過大なエアロゾルは核酸増幅系などで交叉汚染の原因になるため、超音波処理後は少なくとも 20～30 分静置してエアロゾルが落ち着くまで開封しない。

#### (6) 遠心分離

頻繁に行われる検査室内手技のひとつである。まず遠心分離機の使用に習熟し、規定以上の回転数で使用しない。また、バイオハザード対応の遠心機を使用し、検体容器を直接遠心するのではなく、閉鎖式のバケットに入れて遠心操作を行う。バケットの開閉は安全キャビネット内で行う。

#### (7) ホモジナイゼーション

組織などをホモジナイズする際は、基本的に密閉チューブ内で実施する。

#### (8) フリーズドライサンプルの開封

フリーズドライサンプル（アンプル）を開封する際は、アンプル内外の気圧差によって容易にエアロゾルが発生する可能性がある。検体と同様に安全キャビネット内で開封する。

### 3. 検査（実験）施設の条件（環境制御）

アセスメントの結果を含め、一般的な検査室として以下の様な施設条件が考えられる。

- (1) 適切な訓練を実施し、施設の長に許可された者以外の感染管理区域内への立ち入りは禁止する。
- (2) 廊下の立ち入り制限および二重ドア（自動が望ましい）またはエアロックにより外部から隔離された実験室で行う。
- (3) 室内の壁、天井、床、作業台等の表面は洗浄および消毒が可能な材質・構造とする（エアロゾル・コントロールの点からはあまり関連がないが、培地の落下・培養菌の飛散などのアクシデント処理を考えると必要）。
- (4) 排気系の調節により、常に外部から室内に向かって空気が流れるようにする。陰圧コントロールは必ずしも必要ない。
- (5) 実験室からの排気は HEPA フィルターを通して除菌後大気中に放出する。
- (6) 実験操作は原則としてすべて安全キャビネット内で行う。
- (7) 適切な消毒薬を常備する（手指消毒あるいは設備、環境用）。

Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual<sup>3)</sup>によると、直接塗抹検査であれば安全キャビネットを使用せずとも、十分な換気を確保すれば実施可能であるとされている。また、検体を遠心集菌し培養するまでの過程であれば、実験室を物理的に隔離し、室内の壁、天井、床、作業台等の表面を不浸透性の材質として、Class I、Class IIA2 あるいは Class II の安全キャビネットを使用して検査可能としている。さらに分離した結核菌を同定や感受性試験に用いる

場合は、入り口を二重ドアにして、関係者以外の立ち入りを制限するなどの措置を追加しているが、バイオセーフティレベル3の実験室(検査室)に必須とされる「密閉」機能は不要としている。これは連続する換気により病原体を希釈あるいはHEPAフィルター除去してしまえば、機械的密閉と燻蒸は不要とする考え方である。

#### 4. 個人防衛

安全キャビネットや換気システム(施設・設備)で環境をコントロールすることも重要であるが、最終的にはエアロゾルの吸入を防ぐことに最大の目的がある。ガウンテクニックや手袋の使用など一般的なGLPが必要なのは言うまでも無いが、適切なレスピレーター(N95マスク等)は必ず着用しなければならない(エアロゾル発生は安全キャビネットの中だけで起こるとは限らない)。

#### 5. おわりに

今回、結核の検査におけるバイオリスクアセスメントを基礎とした作業内容と対策について概説した。しかしながら、実際の感染制御上最も重要なのは感染源としての患者管理である。活動性結核患者から検体を採取する際のリスクコントロールなど、検査室の外にも検査室が関与可能な感染リスクがある。臨床との緊密な連携により、検査室以外でも積

極的に感染制御に関与すべきと考える。

#### 6. まとめ

結核菌のバイオセーフティ対策は、その取り扱う検体の中身によって対応が異なる。菌量がわずかであり、エアロゾル発生が比較的少ないと思われる塗抹検査や培養(接種まで)までと、培養増殖した結核菌を取り扱う菌種同定や薬剤感受性試験では、当然ながらバイオセーフティ対策の度合いが異なる。検査内容を考慮したバイオリスクアセスメントの元に、システム管理、環境制御、個人防衛の観点から適切なバイオセーフティ手順を実践することが重要である。

#### 参考文献

- 1) Laboratory biosafety manual. - 3rd ed. World Health Organization. WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11
- 2) Tuberculosis laboratory biosafety manual. World Health Organization. WHO/HTM/TB/2012.11
- 3) 厚生労働省結核感染症課. 健感発 0407 第9号
- 4) Kim SJ, Lee SH, Kim IS, Kim HJ, Kim SK, Rieder HL. Risk of occupational tuberculosis in National Tuberculosis Programme laboratories in Korea. Int J Tuberc Lung Dis. 2007; 11: 138-142.
- 5) 公益財団法人結核予防会編: 結核の統計 2015. 公益財団法人結核予防会, 東京, 2015
- 6) 吉山崇. 多剤耐性結核の治療成績. 結核 2010; 85: 128-131.

## 結核の診断薬 IGRA とバイオセーフティ

原田 登之

一般社団法人免疫診断研究所

### 1. はじめに

結核菌は体内に侵入した後、マクロファージにより貪食されるが、マクロファージの殺菌機構から逃れ、増殖あるいは休眠状態になると考えられている典型的な細胞内寄生菌である。結核菌に感染した者のうち発症するのは約10%程度であり、残りの90%は細胞性免疫を基盤とした防御機構により結核菌を封じ込めた潜在性結核感染となり<sup>1)</sup>、生涯発症しないか、あるいは高齢等により免疫能が低下した際に結核を発症する、いわゆる「再燃」が起ると考えられている。現在、この潜在性結核感染者は、世界人口の約三分の一と見積もられており、将来の感染源と成り得る。このような新たな感染源を断つことは結核に対するバイオセーフティの一環とも考えられ、この目的のため先進国では結核患者と接触を持った者の中から潜在性結核感染者を早期に見出し、発病を防ぐために治療を行う接触者健診が実施されている。潜在性結核感染の診断に用いられる方法は、約10年前まで唯一ツベルクリン反応(ツ反)が使用されてきた。しかし、ツ反の診断感度は優れているものの、その特異性の点で重大な欠点を持っている。その理由は、ツ反に用いるPPDには数百種類もの異なった結核菌抗原が混在し、その大部分がBCGや非結核性抗酸菌の抗原と高い類似性を持ち、抗原としての高い交差性を持つためである。この欠点のため、BCG接種が広範に行われている日本では、ツ反では正確な結核感染診断を行うことは困難であった。低特異性はツ反の持つ最大の欠点であるが、その他にもPPD投与およびツ反測定における技術的差、PPD再投与によるブースター効果(抗原再投与による免疫反応の増強効果)、ツ反測定のための再受診の必要性、等の弱点を持つ。しかし、結核菌特異抗原の発見以降、これらツ反の持つ欠点を一挙に克服し、さらにツ反より高感度・高特異度を持ち合わせた診断法IGRA(Interferon-Gamma Release Assays)が開発された。IGRAは、BCGやほとんどの非結核性抗酸菌には存在しない結核菌特

異抗原でエフェクターT細胞を刺激し、産生されるInterferon-Gamma(IFN- $\gamma$ )を測定することにより結核感染を診断するため、BCG接種やほとんどの非結核性抗酸菌感染の影響を受けずに高特異度で結核感染を診断できる。IGRAには、ELISA法を用いるクオンティフェロンと、ELISPOT法を用いるT-SPOT.TBの2種類があり、日本において先ずクオンティフェロン<sup>®</sup>TB-2G(QFT-2G)が2005年4月に承認された。さらに、その後QFT-2GはQuantiFERON-TB Gold In-Tube(日本ではクオンティフェロン<sup>®</sup>TBゴールド、通称QFT-3G)に改良され、次いでT-SPOT.TB(日本ではT-スポット<sup>®</sup>.TB、以下T-スポット)が2012年に承認された。本稿では、IGRAで使用されている結核菌抗原、IGRAの操作法、および実施上の注意点等について解説する。なお、IGRAは血液を採血することから始まるため、バイオセーフティ上の一般的注意として、採血者おける「針刺し事故」について十分留意することが大切である。基本的には、注射針にはリキャップをしない、注射針専用の廃棄容器を使用する等の防止策を講じる必要があるが、日本医師会により作成されたマニュアルが参考になるであろう<sup>2)</sup>。

### 2. Interferon- $\gamma$ 産生誘導性結核菌特異抗原の発見

1995年、デンマーク国立血清研究所(Statens Serum Institute)のAndersenらのグループにより、マウス記憶T細胞からInterferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )産生を強く誘導する結核菌抗原ESAT-6(The early secretory antigenic target 6 kDa protein)が、結核菌培養濾液から精製・同定され、同時にその遺伝子もクローニングされた<sup>3)</sup>。翌1996年MahairasらのグループがBCGと*M. bovis*間の遺伝子レベルでの相違を解析した結果、ESAT-6遺伝子がBCGでは欠落しているRD1(Regions of Difference 1)領域に存在していることが明らかになった<sup>4)</sup>。また、

ESAT-6と同様にIFN- $\gamma$ 産生を強く誘導する結核菌抗原CFP-10(10 kDa Culture Filtrate Antigen)が、ESAT-6と同じRD-1領域内に位置していることも明らかにされた。さらに、その後の解析の結果、ESAT-6およびCFP-10は、全ての*M. bovis* BCG亜株と*M. avium*、*M. intracellulare*を含む大部分の非結核性抗酸菌には存在せず、*M. tuberculosis*、*M. bovis*(BCG以外の)と*M. africanum*を含む結核菌群、およびごく一部の非結核性抗酸菌にのみ存在することが判明した(表1)。これらの発見を基に、BCGと大多数の非結核性抗酸菌には存在しないESAT-6およびCFP-10を刺激抗原としてリンパ球を刺激し、エフェクターT細胞より産生されたIFN- $\gamma$ 量を測定することにより、BCG接種および大多数の非結核性抗酸菌感染の影響を受けない結核感染診断法IGRAを開発することが可能になった<sup>5)</sup>。

### 3. QFT-3Gの原理

QFT-3Gの1世代前のQFT-2Gは、2005年4月に体外診断用医薬品として承認され、2007年に発行された接触者健診のガイドライン<sup>6)</sup>において、QFT-2Gを積極的に使用することが推奨された。その後、操作面で改善されたQFT-3Gが2010年1月に発売された。QFT-3Gには、QFT-2Gで用いられていた結核菌特異抗原ESAT-6とCFP-10に加え、結核菌特異抗原TB7.7(Rv2654)が新たに加えられている。このQFT-3Gでは、検体を不適切に取り扱うと誤った結果になる場合もあり、正確な結果を得るためにはこれらの点を十分理解しておく必要がある。ここでは、QFT-3Gの原理、次に実施上の注意点について述べる。

図1に示すように、QFT-3Gは専用の1mL用採血管3本(陰性コントロール、陽性コントロール、

抗原)が1組になっており、採血管内に予め刺激抗原等が添加されている。採血後、採血管内の刺激抗原と血液を十分混和し37℃の培養器に入れることにより血液培養を行う。血液培養は、遅くとも採血後16時間以内に行い、培養後は採血管を遠心し分離剤により血漿と血球を分離する。分離された血漿中のIFN- $\gamma$ 量は、ELISA法により測定し、専用の解析ソフトで検査結果を得る。結果の判定を表2に示す。

### 4. QFT-3G実施上の注意点

QFT-3G検査において、検体を不適切に取り扱うと正確な結果が得られない場合があることが明らかになっており、幾つかの注意点が指摘されている。これらの点を十分理解し、検体を注意深く扱うことが重要である。最も重要な注意点としては、採血後の採血管の振り方であろう。QFT-3G専用採血管には分離剤が入っているが、この分離剤が血液に混入することにより非特異的なIFN- $\gamma$ 産生が見られることがある。この分離剤は高温で柔軟になり、この状態で激しく採血管を上下に振ると分離剤の面がえぐられたようになり血液に混入する原因となる。このようなことが起こらないように、検体の保存温度は室温(17から27℃)で保存し、採血管を振る際

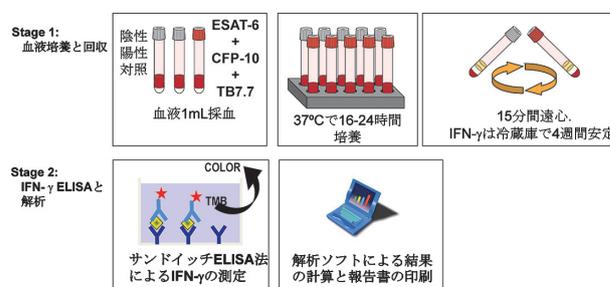


図1. QFT-3G検査の流れ

ステージ1の血液培養と、ステージ2のELISA法によるIFN- $\gamma$ 測定の2段階に分けられる。

表1. 抗酸菌類におけるESAT-6/CFP-10の分布

ESAT-6/CFP-10を持つ抗酸菌類	ESAT-6/CFP-10を持たない抗酸菌類
<b>Tuberculosis complex</b> <i>M. tuberculosis</i> <i>M. africanum</i> <i>M. bovis</i>	<b>BCG substrains</b> Gothenburg Moreau Tice Tokyo Danish Glaxo Montreal Pasteur
<b>Environmental strains</b> <i>M. kansasii</i> <i>M. marinum</i> <i>M. szulgai</i> <i>M. flavescens</i> <i>M. gastrii</i> <i>M. leprae</i>	<b>Environmental strains</b> <i>M. avium</i> <i>M. intracellulare</i> etc

表2. QFT検査の判定基準

測定値M (IU/mL)	測定値A (IU/mL)	結果	解釈
不問	0.35以上	陽性	結核感染を疑う
0.5以上	0.1以上 0.35未満	判定保留	感染リスクの度合いを考慮し、総合的に判断する
	0.1未満	陰性	結核感染していない
0.5未満	0.35未満	判定不可	免疫不全等が考えられるので、判定を行わない

も穏やかにする必要があり、また、各採血管の採血量は0.8から1.2mLの範囲と指定されており、この範囲を逸脱すると結果が保証されないという点も注意を要する。さらに、遠心分離後に分離剤上に残る血液残渣が血漿検体に混入すると、IFN- $\gamma$ を測定するELISA法の段階で非特異的な発色反応が起こることが報告されている<sup>7)</sup>。従って、遠心分離後に血漿を検体保存チューブに回収し、これを再度遠心することにより混入した血液残渣を沈殿させ、その上清を検査に用いることが重要である。

## 5. T-スポット検査の原理

もう一つのIGRA検査であるT-スポットは、2012年10月に体外診断用医薬品として承認された。T-スポットもQFT-3Gと同様に、結核菌特異抗原としてESAT-6とCFP-10を使用している。

T-スポットでは、IFN- $\gamma$ 産生量を測定するのではなく、ELISPOT法を用いIFN- $\gamma$ 産生細胞数を測定することにより感染診断を行う。検体は、基本的にヘパリン採血管1本に少なくとも6mLの採血を行い採血後32時間以内に処理すれば良いため、採血翌日の処理も可能である。ただし、採血後8時間を超えた検体を処理する際には、T-Cell Xtend<sup>®</sup>試薬を使用する必要がある。検査手順は図2に示すように、まず血液より末梢血単核球(PBMCs)を分離・洗浄後、細胞数を計測し、培養プレート1ウエル当たり25万個のPBMCsを刺激抗原等と共に添加し培養する。細胞の刺激には、1検体あたり4種類の異なった刺激を行う。コントロールとして、IFN- $\gamma$ 産生のバックグラウンドを見るための陰性コントロールと、被検者の免疫能を評価する陽性コントロールの2種類があり、これはQFT-3Gでも同様

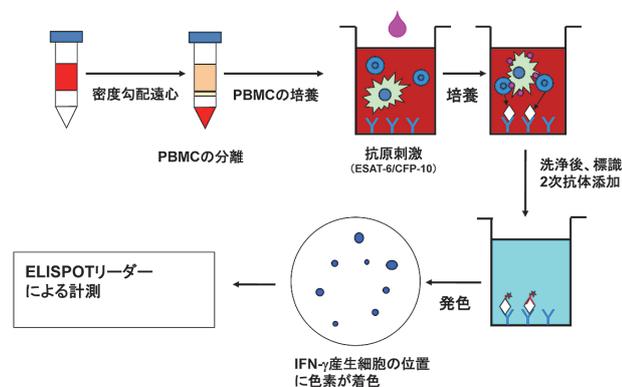


図2. T-スポット検査の流れ

ステージ1のPBMCsの培養と、ステージ2のELISPOT法によるIFN- $\gamma$ 産生細胞検出の2段階に分けられる。

に設定されている。残りの2種類は、パネルA抗原(ESAT-6)とパネルB抗原(CFP-10)であり、QFT-3Gと異なり別々に抗原刺激を行う。培養用のマイクロプレートの底面はプラスチックではなく白色の合成膜で構成されており、この膜上には予め抗ヒトIFN- $\gamma$ 抗体が吸着している。培養中に、結核感染があるとQFT-3Gと同様に抗原刺激によりエフェクターT細胞よりIFN- $\gamma$ が産生されるが、IFN- $\gamma$ がその産生場所で直ちに膜上の抗ヒトIFN- $\gamma$ 抗体により捕捉される。培養は、CO<sub>2</sub>インキュベーターで16から20時間行い、培養後PBSにより各ウエルを4回洗浄する。洗浄後、酵素標識された2次抗体を添加し、4℃で1時間静置する。1時間後、各ウエルを再度PBSで4回洗浄し、酵素基質を添加し室温で7分間発色反応をさせる。この間に、2次抗体の結合している場所で酵素基質が不溶性の色素となり膜上に沈着する。2次抗体の結合している場所というのは、IFN- $\gamma$ 産生細胞が存在した場所であるため、発色したスポットの場所にIFN- $\gamma$ 産生エフェクターT細胞が存在していたということになる。すなわち、スポット1個がIFN- $\gamma$ 産生エフェクターT細胞1個に相当する。反応停止は、各ウエルを精製水で十分洗浄することで行う。スポットは膜が乾燥すると、より鮮明になるため膜が十分乾燥(37℃で4時間、あるいは室温で1晩風乾)してから計測を行う。スポットの計測は、T-スポット専用カウンターを用いるのが1番良いが、拡大鏡等を用い目視での計測も基本的には可能である。本来のスポットは、大きく正円状であり、中心部分が濃い暗青色で中心部から離れるにしたがい徐々に色が薄くなる。全体に色が薄い、あるいは濃い、あるいは形状がいびつなスポットは計測しない。実際に、これらを考慮しながら目視で計測するのは容易ではない。実際のT-スポット検査例を図3に示す。

T-スポットは常に一定数のPBMCsを反応に使用するため、免疫抑制状態でもQFT-3Gよりは良好な結果が得られるという報告が多い。また、PBMCsを調整する際に血漿を取り去るため、QFT-3Gと異なり血漿中に予め存在するバックグラウンドのIFN- $\gamma$ により検査結果が影響を受けないという利点を持つ。

T-スポット検査による判定としては、添付文書中に以下のように記載されている。

### (1) 判定基準

1) 以下の計算式を用いて、①及び②を算出する。

$$\textcircled{1} \quad [(\text{パネル A ウエルのスポット数}) - (\text{陰性コントロールウエルのスポット数})]$$

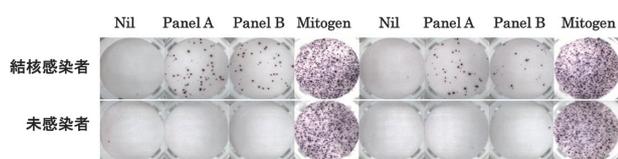


図3. スポット.TB検査の例

上段が結核感染者、下段が未感染者のプレートを示す。陰性コントロールではスポットがほとんど見られず、陽性コントロールは非常に多くのスポットが見られる。未感染者ではPanel A、Panel B共にスポットは見られないが、結核感染者ではスポットが観察される。

(Nil:陰性コントロール、Panel A:パネル A 抗原、Panel B:パネル B 抗原、Mitogen:陽性コントロール)

② [(パネル B ウエルのスポット数) - (陰性コントロールウエルのスポット数)]

2) 1)で得られた①及び②の数値を用いて、以下判定基準に従い結果を判定する。

a ①及び②の双方、或いは、①、②のいずれか一方が6スポット以上の場合：陽性

b ①、②の双方が5スポット以下の場合：陰性

ただし、以下の場合「判定不可」とし 再度血液を採取して検査を行うこと。

c 陰性コントロールウエルのスポット数が10を超える場合。

d 陽性コントロールウエルのスポット数が20未満となる場合。

ただし、一部の患者のT細胞はPHA溶液に十分な反応性を示さず、スポット数が20未満となることがある。そのため、パネル A ウエル又はパネル B ウエルのどちらかが陽性結果を示した場合は、陽性コントロールウエルのスポット数に関わらず「陽性」と判定すること。

(2) 判定上の注意

1) 「判定基準」1) の手順に従い、①及び②を算出した際、双方のスポット数の最大値が5～7になった場合、検査結果は「判定保留」と考えられる。このような場合、「陽性」または陰性の判定結果としては有効であるが、数値8以上となった場合、或いは数値が5未満となった場合と比較して、結果の信頼性がやや低下する可能性がある。このような結果となった場合、再度血液を採取して検査を行うことが推奨される。

以上の様に、判定保留域の設定は明示されていない。しかし米国 CDC のガイドラインでは判定保留域が明確に示されており<sup>8)</sup>、またスポット数6個以上が陽性とする判定が有効であること、さらに製造

表3. T-スポット検査の判定基準

判定	陰性コントロール	結核菌抗原	陽性コントロール
陽性	≤ 10 スポット	≥ 8 スポット	全て
陽性判定保留	≤ 10 スポット	6, 7 スポット	全て
陰性判定保留	≤ 10 スポット	5 スポット	全て
陰性	≤ 10 スポット	≤ 4 スポット	≥ 20 スポット
判定不可	> 10 スポット	全て	全て
	≤ 10 スポット	< 5 スポット	< 20 スポット

元も世界的に判定保留域の考慮を推奨していることから、以下の判定表が妥当ではないと考えられる(表3)。

### 6. T-スポット検査の問題点

T-スポット検査の検体は、QFT-3Gと異なり採血時における取り扱い上の注意点が少ない。採血時の注意点としては、十分な採血量と保存・搬送時の温度管理であろう。このように、T-スポット検査では採血現場における運用が容易になる。一方、T-スポット検査の短所としては、検体処理が煩雑であり、またスポットの発色終了まで途中で休止できない点であろう。QFT-3Gでは培養後、遠心分離された検体は4週間保存可能であるため、多量の検体であっても処理は比較的容易である。しかし、T-スポット検査は操作が煩雑であり、かつ時間的な制限があるため、限られた人員で多量の検体を規定時間内に処理しなければならないような状況には不向きであると考えられる。実際、外注で行ったT-スポット検査の感度が低い可能性が報告されており<sup>9)</sup>、今後検査センターの検査精度が大きな問題になると思われる。

### 7. おわりに

IGRAは生きたリンパ球を結核菌特異抗原で刺激しIFN-γを産生させることが原理であるため、血液検体の不適切な取り扱いは検査結果に重大な影響を及ぼすことを十分理解した上で検査を実施されることが望まれる。また、QFT-3Gより感度が優れていると言われる次世代の試薬 QFT-Plus が欧州で既に発売されており、今後日本でも承認されると思われるが、このようにIGRAはこれからも進化して行く可能性がある。一方で、現行のIGRAにも限界があること、特に以下の診断特性を十分理解しておくことが、検査結果を読む際に役立つであろう。

- (1) 活動性結核と潜在性結核感染を区別できない。
- (2) IGRA 検査により、「古い感染」と「最近の感染」の区別はできない。

従って、検査結果から被検者への対応を判断するには、IGRA 検査以外の他の検査結果、臨床所見や接触状況等を含め総合的に考慮することが重要である。今後は、これらの点を区別するような診断法の開発が望まれる。

## 8. まとめ

結核感染、特に潜在性結核感染を従来のもより高精度で診断できる IGRA という強力なツールが使用可能となった現在、結核の封じ込めをより確実に実施することにより、日本も結核低まん延国となることが期待される。

## 参考文献

- 1) Comstock, GW. Epidemiology of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1982; 125 (suppl): 8-16.
- 2) 医療従事者のための医療安全対策マニュアル. 日本医師会. <http://www.med.or.jp/anzen/manual/pdf/honbun.pdf#search='%E9%87%9D%E5%88%BA%E3%81%97%E4%BA%8B%E6%95%85+%E3%83%9E%E3%83%8B%E3%83%A5%E3%82%A2%E3%83%AB+%E5%8E%9A%E7%94%9F%E5%8A%B4%E5%83%8D%E7%9C%81'>
- 3) Andersen P, Andersen AB, Sorensen AL, et al. Recall of long-lived immunity to Mycobacterium tuberculosis infection in mice. *J Immunol* 1995; 154: 3359-72.
- 4) Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, et al. Molecular analysis of genetic differences between Mycobacterium bovis BCG and virulent M. bovis. *J Bacteriol* 1996; 178: 1274-82.
- 5) Andersen P, Munk ME, Pollock JM, et al. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000; 356: 1099-104.
- 6) 財団法人結核予防会. 改正感染症法に基づく結核の接触者健診の手引きとその解説. 2007.
- 7) 関谷幸江、他：クオンティフェロン® TB ゴールド検体における再遠心の必要性について. *結核* 86 (3) : 405, 2010
- 8) Mazurek GH, et al: Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep*. 59 (RR-5): 1-25, 2010
- 9) 福島喜代康、他：QFT と T-スポットどちらを使用すべきか？ ～ QFT と T-スポットの比較検討～. *結核* 90 (2) : 156, 2015

# 薬剤耐性結核菌 — 研究開発の現状と将来 —

土井 教生

(公財) 結核予防会 結核研究所 生体防御部  
主任研究員 / 新抗結核薬・化学療法プロジェクトリーダー

## 1. はじめに

薬剤耐性結核とその定義：既存の第1次抗結核薬の中で化学療法の鍵を握るイソニアジド (INH: isoniazid) とリファンピシン (RFP: rifampicin) の2剤に対し、ともに耐性を有する結核菌は、それ以外の薬剤に耐性を有するか否かにかかわらず、多剤耐性結核 (MDR-TB: multi-drug resistant TB) と定義される。また、既存薬2剤あるいはそれ以上の抗結核薬に耐性を有する場合は poly-drug resistant TB と定義される；例えばINHとストレプトマイシン (SM: streptomycin) に耐性を有する場合は poly-drug resistant TB と定義し MDR-TB と区別される。MDR-TB の中でさらにフルオロキノロン剤 (FQ: fluoroquinolone) および注射薬 (injectable drug) のいずれか1剤にも耐性を有する結核菌を超多剤耐性結核 (XDR-TB: extensively drug resistant TB) と定義する。近年、既存の第1次・第2次抗結核薬に対し全て耐性を獲得した結核菌を完全耐性結核 (TDR-TB: totally drug resistant TB) と定義している。

## 2. 多剤耐性結核の現状

WHOの報告(2014年)によると、世界における新規の多剤耐性結核MDR-TB患者数は48万人/年、このうち第2次選択薬による治療が受けられる患者は111,000人(MDR-TB全体の約23%)程度と極めて低率で、死亡者数は15万人以上(>30%) /年、MDR-TBの約9%が超多剤耐性結核XDR-TBであると報告されている。世界の結核患者の新規発生例数が漸減化傾向を示しつつあるのとは対照的にMDR-TB患者数の増加傾向は今もってとどまる気配がない。XDR-TB患者も漸増化傾向を示しているが、世界規模で見ると未だ低率とも言える(図1)<sup>1)</sup>。

日本の新規MDR-TB発生例数は極めて少なく、10年前には年間約400例程度と推定されていたが、多数の結核病床を擁する拠点病院が空調等のバイオハザード対策設備を改善・整備するに伴い、結核と

MDR-TBの院内感染事例は着実に減少傾向を辿り、現在では新規MDR-TB発生例数は年間80例以下と推定されており(図2、図3)日本はMDR-TBの治療成功率が高い<sup>2-4)</sup>。

他方、周辺アジアの開発途上国および中進国はいずれも軒並み結核の高蔓延国で、初感染発病の結核患者の10~20%がMDR-TBという国々の存在も知られ、重大な社会問題となっている。高蔓延諸国に

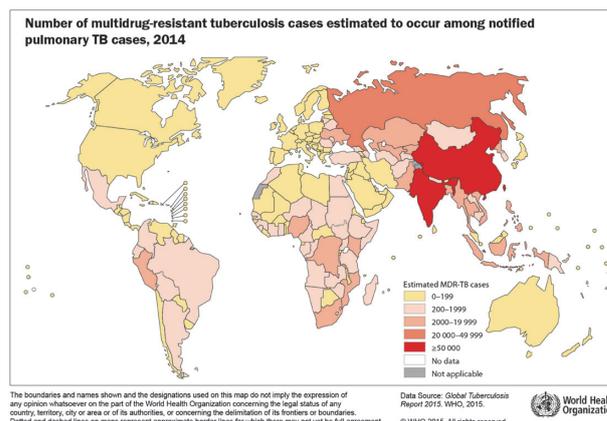


図1. 世界の多剤耐性結核の現状 (WHO web site より転載・引用)

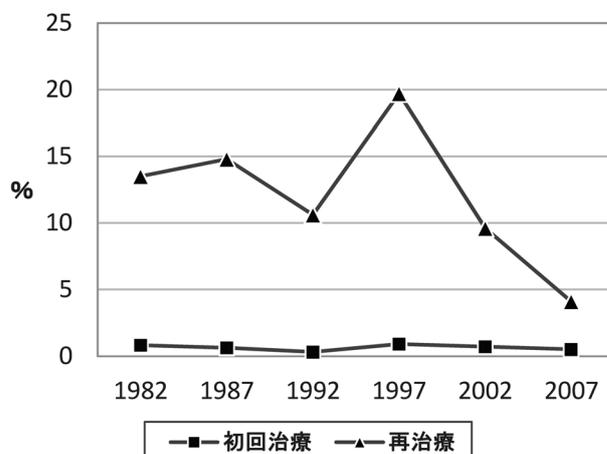


図2. 日本の多剤耐性結核の頻度

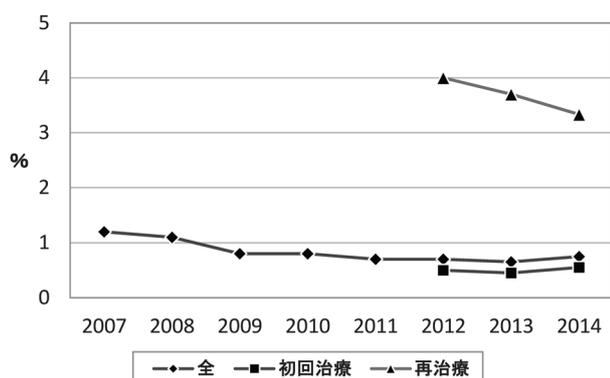


図3. 日本の多剤耐性結核の頻度

における MDR-TB の発生要因は、先進諸国の初回治療失敗例による MDR-TB とは異なり、治療効果の低い第2次抗結核薬の不安定な供給体制の下で拡大させてきた、過去の結核対策失敗の時代の「負の遺産」ともいえる。

### 3. 多剤耐性結核の治療

結核の化学療法の基本は「作用機序の異なる複数の抗結核薬の併用による長期間治療」である。抗結核薬の開発の歴史は古く、1944年のSMに始まり、近年開発されたRFPもすでに40年以上が経過している。結核化学療法の歴史を一言でいえば、各種抗結核薬の開発に伴い、その都度、治療期間短縮化の歩みが進められてきた歴史と言える。すなわち、1946年のSM単剤による最初の臨床試験に始まり、1952年のSM・パラアミノサリチル酸 (PAS: *p*-amino salicylic acid)・INHを用いた最初の3剤併用化学療法による24ヶ月間治療、1960年代に入りPASをエタンブトール (EB: ethambutol) に置き換えたSM・INH・EBの3剤併用・18ヶ月間治療、1970年代に至ってRFPを加えたSM・INH・RFP・EBの4剤併用による9~12ヶ月間治療、さらに1980年代にはSMをピラジナマイド (PZA: pyrazinamide) に置き換えたINH・RFP・PZA・EBの4剤併用による現行6~9ヶ月間標準化学療法が普及するに至っている<sup>5-7)</sup> (図4)。

現在のMDR-TB治療は、分離菌株が薬剤感受性試験で感受性を有すると確認できた各種の第2次抗結核薬を4~6剤組み合わせ合わせた18~24ヶ月間の長期化学療法である。MDR-TB治療に適用可能な第2次抗結核薬はいずれも静菌の活性を示し殺菌活性に乏しくかつ強い副作用を惹起する機会が多い、このためMDR-TBにおける長期化学療法はより困難となっている (表1)。

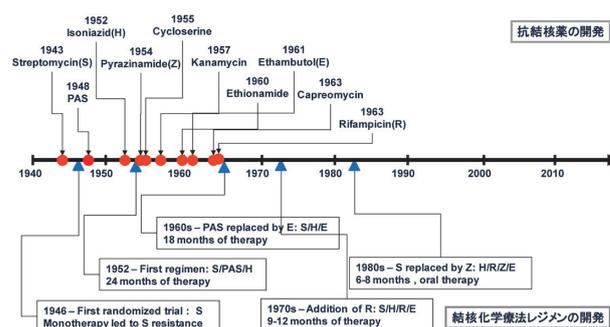


図4. 抗結核薬と結核化学療法レジメン開発の歴史

表1. 結核化学療法の現状

疾患区分	薬剤感受性結核 DS-TB	薬剤耐性結核 M(X)DR-TB
HIV-	4剤併用 (第1次抗結核薬) ≥6ヶ月間治療 (2RHZE + 4RH)	≥18ヶ月間治療 (第2次抗結核薬)
HIV+	DS-TB 同様の治療 抗結核薬と抗エイズ薬の薬剤間相互作用 (DDI) のため 治療困難	M(X)DR-TB 同様の治療 薬剤間相互作用 (DDI) + 副作用のため 治療困難

rifampicin (R), isoniazid (H), pyrazinamide (Z), ethambutol (E)

### 4. 世界の新規抗結核薬開発の現状

新規抗結核薬の世界の開発状況は Working Group on New TB Drug (WGND) /Stop-TB Partnership の web site で閲覧することができる<sup>5)</sup>。探索段階 (Drug Discovery) のプロジェクト数は、Hit-to Lead 段階が12プロジェクト、Lead Optimization 段階では14プロジェクトが開発途上にある。次の前臨床試験 Pre-Clinical 段階では7プロジェクト。臨床試験の段階では、第I相で2プロジェクト、第II相で7プロジェクト、第III相で3プロジェクトがそれぞれ進行中である<sup>5)</sup> (図5、図6)。

探索プロジェクトと臨床開発第II相~第III相のプロジェクト数が多いのとは対照的に、前臨床試験段階 Preclinical Development に位置する各プロジェクトがいずれも数年来開発段階を上げることができずにいる。結果、臨床開発第I相の開発段階のプロジェクトは僅か2プロジェクトに留まっている。この背景には、昨年1年間に世界の大手製薬企業 AstraZeneca、Pfizer、Novartis、Vertex の各社が抗結核薬の研究開発分野から撤退する事態が相次いだ事情がある：世界の大手製薬企業で残っているのは GSK (GlaxoSmithKline) のみである。

### 5. 新抗結核薬の研究開発費の動向

TAG (Treatment Action Group) の定例報告 2015 Report on Tuberculosis<sup>6)</sup> によると、現在のところ

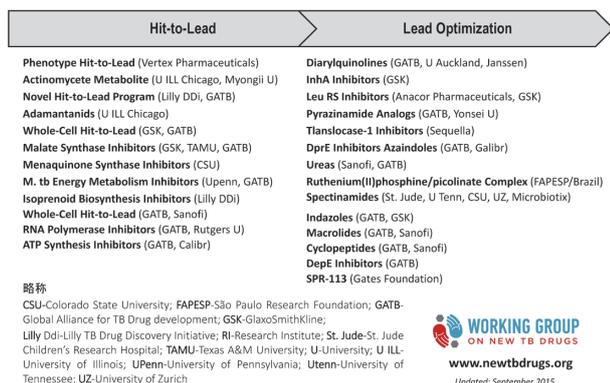


図5. Global TB Drug Pipeline 1

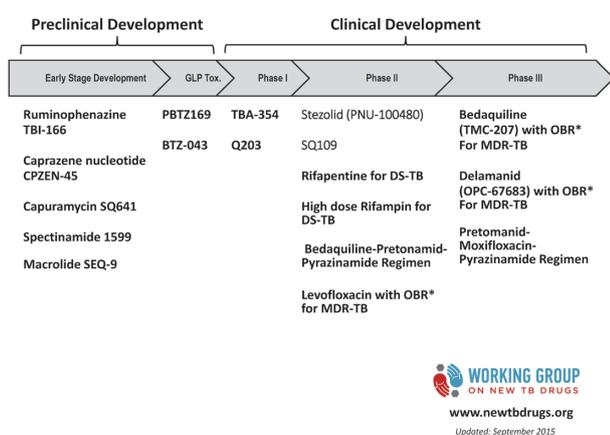


図6. Global TB Drug Pipeline 2

\* OBR=Optimized Background Regimen

TB R&D 研究資金総額 \$674,036,492 の 36% を薬剤開発 (Drugs) が占めているが、2005~2011 年まで順調に増加し続けて来た抗結核薬開発の研究費総額が 2012 年以降横這いから減少化に転じる傾向を示し、2015 年現在もなお回復の兆しが無い；新抗結核薬の研究開発資金が 10 年前の状況にまで逆戻りする可能性が危惧されている。

現在、新薬開発の資金は「探索スクリーニング・プロジェクト」と「臨床開発プロジェクト」に重点的に使用されているが「前臨床~GLP 段階の開発プロジェクト」への投下資金が大きく不足する偏った資金運用の状況が続いている。その結果、現在 Phase-I プロジェクトでは空白に近い状況が続き、臨床導入を目前にした（先行する新薬の companion drug と目される）後続新薬開発の停滞を招いている。これらの諸事情が合わさり、次世代の短期化学療法レジメンの臨床開発は目下大幅に遅延する事態を招いている (図 2)<sup>5)</sup>。

日本では 2013 年 4 月 8 日に日本の外務省と厚生

労働省、国連開発計画 (UNDP: United Nations Development Program) が連携して一般社団法人グローバルヘルス技術振興基金 (Global Health Innovative Technology Fund, GHIT Fund) が設立された。これは社会的需要度が高いが収益性に乏しいため研究開発が滞ってきた開発途上国に蔓延する熱帯病 (NTD: Neglected Tropical Diseases)、結核、マラリア等の疾病の治療薬・ワクチン・診断薬開発の支援により日本が国際保健分野で貢献を果たすことを目的に設立された日本初の官民共同型グローバルファンドである。現在 GHIT には国内の製薬企業各社: 武田薬品工業、塩野義製薬、第一三共製薬、エーザイ、アステラス等が参画し、それぞれ新たなプロジェクトの取り組みが始まっている。日本の技術力・研究力を花開かせ世界の感染症対策・保健医療に貢献を果たそうとする GHIT の今後の展開に期待が持たれる。

## 6. 注目されている新抗結核薬

Bedaquiline, Delamanid, Pretomanid (PA-824), TBA354

40 年ぶりに bedaquiline<sup>7)</sup>、delamanid<sup>8,9)</sup> の 2 剤が多剤耐性結核 MDR-TB 治療のための新薬として認可された。当初、異なる化合物クラスに属するこれら 2 種類の新薬 bedaquiline と nitroimidazol (delamanid, PA-824) の併用治療効果に期待が持たれたが、動物モデルを用いた感染治療実験では bedaquiline と nitroimidazol は相互に拮抗作用を示して、併用効果は得られなかった<sup>10)</sup>；ヒトにおけるこれら 2 剤の併用治療効果については今後の臨床試験の結果に待つほかない。また、ヒト投与時において rifampicin (RFP) との併用条件下で delamanid の血中濃度は 47% 低下<sup>11)</sup>、同じく PA-824 は 66% 低下す

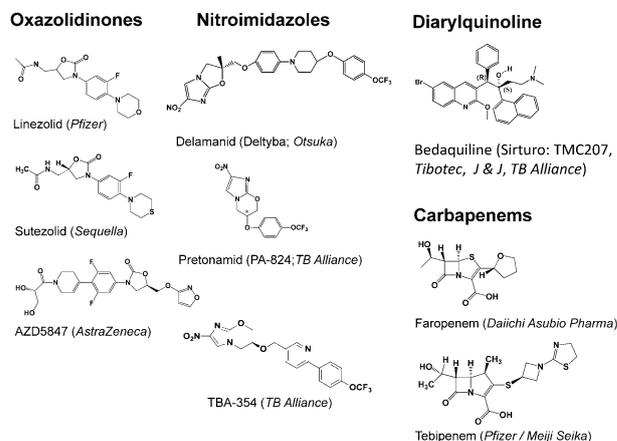


図7. 注目の新規抗結核薬と候補化合物

ることが知られるに至った<sup>12)</sup>。このため、bedaquilineの場合と同様 delamanid、PA-824ともに現行の第一次抗結核薬との併用治療レジメンを構成することができない。TBA354 (TB-Alliance) は nitroimidazole 系抗菌薬 (PA-824) の後継化合物で、PA-824、delamanid に比べて生体内吸収効率が大幅に改善されているのが特徴である<sup>13)</sup>。但し、TBA-354 も rifampicin (RFP) との併用は不可であり、PA-824、delamanid とは相互に交叉耐性を示す<sup>14)</sup>。将来 PA-824 は TBA354 に置き換わる可能性が高いと考えられる。もうひとつ、現在、結核化学療法分野で大きな盛り上がりを見せているのは「小児結核の化学療法」である：既存の抗結核薬の最適用量・用法の全面見直し、さらには新薬 (bedaquiline または delamanid) を含めた小児結核の治療に特化した新たな治療レジメン開発の臨床研究も同時進展中である。

#### Oxazolidinones : linezolid, sutezolid, AZD5847

Linezolid (Pfizer 社) は多剤耐性結核 MDR-TB に対する併用治療レジメンにおいて有用性の高い併用薬として評価を得ているが<sup>15-17)</sup>、骨髄毒性の有害事象を発現することから安全な投与期間は今なお1ヶ月と見做されている。その一方で、linezolid は bedaquiline、delamanid、pretomanid との併用薬として大きく期待されている。Sutezolid は linezolid より抗結核菌活性に優れ1日600~1200mg投与が可能で次世代の短期治療レジメンにおける有望な新薬として期待されてきたが、開発元だった Pfizer 社から Sequella 社にライセンスアウトされ(2014年)、臨床開発は継続されるが今後の見通しは判然としない<sup>18)</sup>。AZD5847 (AstraZeneca 社) は良好な *in vitro*、*in vivo* 活性を示す oxazolidinone で2013年に臨床試験第II-a相を終了し、現在第II-b相の開発段階にあるが情報が乏しい<sup>19)</sup>。

#### β-ラクタム系抗菌薬 Carbapenems

従来 β-lactum 系抗菌薬は抗結核菌活性を示さない抗菌薬とされてきたが、近年 carbapenem 系抗菌薬が β-lactamase 阻害剤 (クラブラン酸: clavulanic acid、他) と併用することで抗結核菌活性を発現する事が知られるに至った<sup>20,21)</sup>。注射薬の meropenem と経口投与薬 faropenem (第一三共) の結核に対する治療効果について2015年から南アフリカで臨床試験第II-a相が開始されており、目下 meropenem の有用性が確認されつつある。さらに、経口 carbapenem 系抗菌薬の tebipenem (Pfizer 社) は結核菌の β-lactamase BlaC に結合して活性を発現する事が知られ、試験管内 *in vitro* で多剤耐性結核菌

(MDR-TB) と超多剤耐性結核菌 (XDR-TB) に対しても有効であることが報告されている<sup>22,23)</sup>。近い将来、carbapenem 系抗菌薬が新たな結核の併用薬としての臨床導入される日が来るかもしれない。

#### 7. 新しい短期併用治療レジメン開発の動向

結核の新しい短期併用治療レジメン開発の難しさは、①交叉耐性による併用薬剤の制限、②薬剤間相互作用 (drug-drug interaction: DDI) による併用不可の組み合わせ薬剤、③有害事象の重複・増幅による副作用、④新レジメンでは2剤以上の新薬の同時導入を基本とするが同時導入・併用すべき companion drug の欠如、⑤基礎疾患 (糖尿病等) のリスクによる適用不可の可能性・・・等、難題山積の状況にある (表2)。

#### MDR-TB の新レジメン開発

世界では現行の薬感受性結核 DS-TB の標準治療期間6ヶ月を3~4ヶ月に、多剤耐性結核 MDR-TB の治療期間を現行の18~24ヶ月を6~9ヶ月に短縮しようと、現在数多くの臨床試験が継続中である<sup>24)</sup>。Bedaquiline、delamanid その他を含む、新しい MDR-TB 治療レジメンを目指す臨床試験を表3に示した。

新たな MDR-TB 治療短縮レジメンとして話題となったのは「MDR-TB を9ヶ月で治療可能とする Bangladesh レジメン」(2014年)の報告であった (図8)<sup>25)</sup>。その後、Bangladesh レジメンの gatifloxacin (GFLX) を moxifloxacin (MFLX) に置き換えた「STREAM Trial レジメン」、さらには有害事象を減らし治療期間をより短縮する目的 (7ヶ月) で prothioamide (PTH) を bedaquiline (BDQ) に置き換

表2. 新レジメン開発の難しさ

- 交叉耐性 (Cross Resistance)
  - MFLX ⇔ GFLX ⇔ LVFX
  - PA824 ⇔ Delamanid ( ⇔ TBA-354 )
  - Linezolid ⇔ Posizolid (AZD5847) ⇔ Stezolid (PNU-100480)
  - BDQ ⇔ CFZ (clofazamine)
- 薬剤間相互作用 (Drug-Drug Interaction) により併用不可
  - BDQ ↓ ⇔ RMP (rifampicin) & RPT (rifapentine)
  - PA-824 ↓ ⇔ RMP (rifampicin) & RPT (rifapentine)
  - Delamanid ↓ ⇔ RMP (rifampicin)
  - BDQ ⇔ Delamanid !? ..? .. ↓ or not ..? ? ⇔
- Companion Drug の欠如 ! ...BDQ, Delamanid
- 有害事象の重複
  - QT延長を惹起する複数薬剤の併用
- 基礎疾患 TB & Diabetes 等による併用不可

表3. 薬剤耐性結核 (DR-TB) の臨床試験

- 1) C208 : OBR+2wBQ<sub>400mg</sub>/22wBQ<sub>400mg</sub> 3times/w vs OBR+placebo, P-2b
- 2) MARVEL : BQ+PZA+PA-824+Stz(1200mg×4/day) vs BQ+PZA+PA-824+Stz(600mg×2/day twice a day) vs BQ+PZA+PA-824+LVFX(600mg) vs Standard Care, P-2b
- 3) Trial 204 : OBR+8wDlm(200mg×2/day) vs OBR+8wDlm(100mg×2/day) vs OBR+placebo, P-2b
- 4) Trial 213 : OBR+2m.Dlm(100mg×2/day)/4m.Dlm(200mg×4/day) vs OBR+placebo, P-3
- 5) STREAM : 4(Moxi+Cfz+EB+PZA+KM+INH+PTH)/5(Moxi+Cfz+EB+PZA) vs local WHO-recommended regimen, P-3
- 6) OPTI-Q : OBR+8wLVFX<sub>20mg/kg</sub> vs OBR+8wLVFX<sub>17mg</sub> vs OBR+8wLVFX<sub>14</sub> vs OBR+8wLVFX<sub>11</sub>, P-2b

OBR: background regimen, BQ: bedaquiline, Dlm: delamanid, Stz: sutezolid, Moxi: moxifloxacin, Cfz: clofazimine, EB: ethambutol, PZA: pyrazinamide, PTH: prothioamide, INH: isoniazid, KM: kanamycin, LVFX: levofloxacin

表5. 薬剤感受性結核 (DS-TB) の臨床試験

- 1) RIFATOX : 2HR<sub>30</sub>EZ vs 2HR<sub>15</sub>EZ vs 2HR<sub>10</sub>EZ, P-2b
- 2) HIGHRIF : 2HR<sub>2000</sub>0303/EZ vs 2HR<sub>900</sub>EZ vs 2HR<sub>200</sub>EZ, P-2b
- 3) PanACEA MAMS-TB-01 : HR<sub>30</sub>EZ vs HR<sub>10</sub>Z+SQ109 vs HR<sub>30</sub>Z+SQ109 vs HR<sub>30</sub>Z+Moxi vs 2HR<sub>10</sub>EZ, P-2b
- 4) TBTC 29X : HRpt<sub>30</sub>E(Z) vs HRpt<sub>15</sub>E(Z) vs HRpt<sub>10</sub>E(Z) vs HREZ, P-2b
- 5) RPT study : HRpt<sub>300</sub>0303/EZ vs HRpt<sub>150</sub>EZ vs HREZ, P-2b
- 6) RioMAR : HRptZ+Moxi vs HREZ, P-2b
- 7) RIFAQUIN : 2REZ+Moxi2(Moxi+Rpt<sub>1900</sub>0303)<sub>2</sub> vs 2REZ+Moxi4(Moxi+Rpt<sub>1200</sub>)<sub>1</sub> vs 2HREZ4HR, P-3
- 8) TBTC S31 : 2HRpt<sub>1200</sub>0303/EZ2HRpt<sub>1200</sub> vs 2HREZ4HR, P-3
- 9) NIRT 3-weekly46 : 2(HRZ+Gati)<sub>2</sub>2(HR+Gati)<sub>2</sub> vs 2(HRZ+Moxi)<sub>2</sub>2(HR+Moxi)<sub>2</sub> vs 2(HREZ)<sub>2</sub>4(HR)<sub>2</sub>, P-3
- 10) OFLOTUB : 2HRZ+Gati2HR+Gati vs 2HREZ4HR, P-3
- 11) REMoxTB : 2HRZ+Moxi2HR+Moxi vs 2REZ+Moxi2R+Moxi vs 2HREZ4HR, P-3
- 12) NIRT daily : 3HREZ+Moxi vs 2HREZ+Moxi2HR+Moxi vs 2HREZ+Moxi2(HR+Moxi)<sub>2</sub> vs 2HREZ+Moxi4(HR+Moxi)<sub>2</sub> vs 2(HREZ)<sub>2</sub>4(HR)<sub>2</sub>, P-3
- 13) STAND / NC-002 : PA<sub>100mg/body</sub>+PZA+Moxi vs PA<sub>200</sub>+PZA+Moxi vs 2HREZ, P-2b
- 14) SHINE : 2HRZ(±E)/4HR vs 2HREZ2HR, P-3

H: isoniazid, R: rifampicin, E: ethambutol, Z: pyrazinamide, Rpt: rifapentin, Moxi: moxifloxacin, Gati: gatifloxacin, P-2b: 臨床試験第Ⅱ-b相, P-3: 臨床試験第Ⅲ相

Bangladesh Regimen; MDR-TB 9ヶ月

4-Months Intensive Phase : 7 drugs + 5-Months Continuation Phase : 4 drugs

High-dose GFLX + EMB + PZA + CFZ + KM + PTH + INH [ Supplement ]

High-dose GFLX + EMB + PZA + CFZ



STREAM trial by BMRC; MDR-TB 9ヶ月

4 (MFLX+CFZ+EMB+PZA+KM+INH+PTH) / 5 (MFLX+CFZ+EMB+PZA)

図8. 多剤耐性結核 (MDR-TB) の短期治療レジメン  
GFLX: gatifloxacin, MFLX: moxifloxacin, EMB: ethambutol, CFZ: clofazimine, PTH: prothioamide, KM: kanamycin, BMRC: British Medical Medical Research Council

表4. Regimen D ( STREAM trial by IUATLD ) : MDR-TB 7ヶ月

薬剤	週	体重別グループ				
		< 33 kg	33 kg to < 40 kg	40 kg to < 50 kg	50 kg to < 60 kg	> 60 kg
Bedaquiline	1-28	400 mg once daily for first 14 days/200 mg thrice weekly thereafter				
Levofloxacin	1-28	750 mg		750 mg		1000 mg
Clofazimine	1-28	50 mg		100 mg		100 mg
Pyrazinamide	1-28	1000 mg		1500 mg		2000 mg
Isoniazid	1-8	400 mg	500 mg	600 mg	800 mg	900 mg
Kanamycin	1-8	15 mg per kilogram body weight (maximum 1 g)				

・ PTH (prothioamide)をBDQ (bedaquiline)に置き換え、MFLX (moxifloxacin)をLVFX (levofloxacin)に置き換え、EMB (ethambutol)を除いてINH (isoniazid)の投薬用量を増加。  
・ 治療期間を40週(10ヶ月)から28週間(7ヶ月)に短縮。

え、moxifloxacin (MFLX)をlevofloxacin (LVFX)に置き換え、ethambutol (EMB)を除いてisoniazid (INH)の投薬用量を増加させた「Regimen D Trial」も進行中である (表4)。

DS-TB の新レジメン開発

当初 ReMox-TB と呼称され、現行の標準治療レジメンのisoniazid (INH)をmoxifloxacin (MFLX)に置き換えてDS-TB 4ヶ月治療を目指した臨床試験が注目を集めたが、結果的には有意差は認められず

期待に反する結果となった<sup>26)</sup>。現在進行中のDS-TBの新レジメン開発を目指した臨床試験一覧を表5に示した。

いっぽう世界では小児結核のための治療レジメンの全面見直しの機運が高まっている。即ち、成人に対する併用薬剤をそのままに容量のみスライドさせて低減化し変更する従来からの現行処方を見直し、各年齢に相応した薬物体内動態 (PK study) と有害事象を精査して、適切な薬剤を組み合わせ最適投薬用量に再設定しようとする意欲的な取り組みである<sup>27,28)</sup>。

Nix-TB 臨床試験

2015年12月2日から6日、南アフリカ共和国ケープタウンのCape Town International Convention Centre (CTICC) で第46回 Union World Conference of Lung Healthの総会が開催された。Union総会の前日12月1日に開催された国際NPO組織TB-Alliance (Global Alliance for TB Drug Development : GATB)のAnnual Stakeholder Association Meetingでは、3種類の新薬pretomanid (PA-824)、bedaquiline (TMC-207)、linezolidを組み合わせた3剤併用レジメンにより大幅な治療期間短縮を目指した臨床試験Nix-TBの動向が注目を集め、議論の的になった。この3剤併用レジメンは全ての結核症例 (薬剤感受性結核・多剤耐性結核・超多剤耐性結核) に対して有効なuniversal regimenを目指す試みであり、薬剤感受性結核を3~4ヶ月間治療、薬剤耐性結核を6~9ヶ月治療にまで短縮することを目指している。議論の中心となったのは、骨髄毒性による副作用のため長期投与が難しいことで知られるlinezolidの投与期間設定であった。しかし、各国の臨床家による見解は様々で、最終的な合意には至っていない。それと同時に、従来の基礎研究では併用不可とされてきたPA-824とbedaquilineの併

用治療効果についても関心が高まっている。今後、期待と注目を集めることになる臨床試験である<sup>29)</sup>。

### 8. おわりに

世界最大の Global Killer としての「結核」の脅威・重要性は未だ変わることはない。「結核」感染症の分野では、「薬剤耐性結核」、「小児結核」、「(治療期間の大幅短縮を目指した) 新薬 / 新しい併用化学療法レジメンの研究開発」、この3つが世界の最重要課題である。本稿のテーマ「薬剤耐性結核」に対する最も強力な克服手段は「新薬の開発」ということになる。

現在「新規の抗結核薬開発」はこれに引き続く「最適な薬剤組み合わせ」と「新しい治療レジメン開発」という臨床導入に伴う最終難関と一体のものとして見做されている。2005年、国際NPO組織(TB-Alliance、Stop-TB Partnership)が提起したのは「抗結核薬開発の目標最短年数を7年に短縮すること」であった。この間WHOをはじめとする国際機関がいずれも「最短7年」を最終目標に臨床開発ネットワークを整備し、開発に要する期間短縮を推し進めてきたが、実際は今なお12~13年もしくはそれ以上の年数を要しているのが現状である。

将来に向けた「次世代レジメン」を構成する候補薬剤については未だ明瞭な輪郭が得られていない。が、少なくとも「結核化学療法の10年後の将来展望」：薬剤感受性結核の標準治療(現在6ヶ月の治療期間)→「3~4か月治療」、薬剤耐性結核(現在18~24ヶ月を要する多剤耐性結核MDR-TB、超多剤耐性結核XDR-TBの治療)→「6~9か月治療」が現実味を帯びてきている。

### 9. まとめ

薬剤耐性菌とは「遺伝子上の点突然変異(point mutation)により薬剤耐性を獲得した菌: genetic resistance」のみならず「宿主内で長期残存型となり、抗結核薬に対する応答性が極めて悪くなった生物型(biotype)の薬剤感受性菌: phenotypical resistance」の双方を指す。MDR-TB患者では長期にわたる過去の化学療法により宿主内では薬剤代謝・排泄の機能(clearance)が亢進していて、投与薬物が容易に有効濃度を保持できない事情もある。薬剤耐性菌の治療は想像以上に難しい要素が重なり合っている<sup>30)</sup>。

長年月にわたる研究開発の過程を経て臨床導入される新薬は、新たな耐性菌の出現を防ぐため、単剤ではなく少なくとも2剤以上の新薬の同時導入が望ましい。「新規抗結核薬の導入に際しては最適なcompanion drugの選定」が必須であり、これも当面する課題である。

高蔓延諸国では中国やインド製の安価だが力価が不安定で品質の悪いgeneric医薬品が大量に出回っている現実がある。これも新たな薬剤耐性菌を生み出す温床のひとつになっている。行政による抗結核薬の品質管理と監視のためのsocial network構築が急務である。

古来「結核は社会的な病」であると言われてきた。薬剤耐性結核の根絶に向かう道筋は、基礎研究・臨床研究・行政による結核医療の監視体制、これら全てが有機的に結びつき機能を果たすことでしか前進はあり得ない。

### 参考文献

- 1) <http://www.who.int/tb/areas-of-work/drug-resistant-tb/en/>
- 2) 結核の統計 2015. (公益財団法人結核予防会) 2015: 13
- 3) 結核療法研究会 平成22年度療研研究報告書, 2011
- 4) 平成26年結核登録者情報調査集計結果, 厚生労働省
- 5) [www.newtbdrugs.org](http://www.newtbdrugs.org)
- 6) TAG, 2015 Report on Tuberculosis, Research Funding Trends, 2005-2014: A Decade of Data (TAG: Treatment Action Group)
- 7) WHO, The use of bedaquiline in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis, interim policy guidance, 2013 (Document No. WHO/HTM/TB/2013.6)
- 8) WHO, The use of delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis, interim policy guidance, 2014 (Document No. WHO/HTM/TB/2014.23)
- 9) Szumowski JD, Lynch JB; Review: Profile of delamanid for the treatment of multidrug-resistant tubercu-

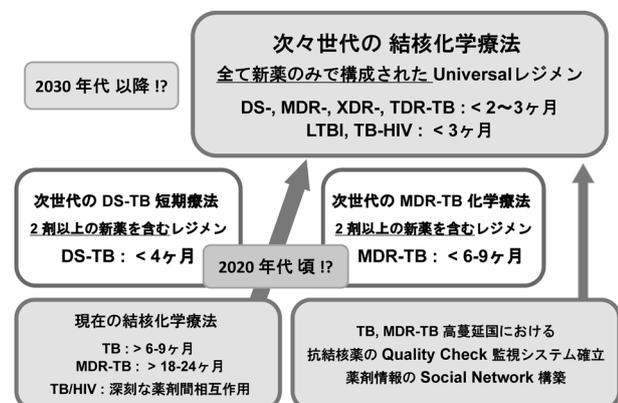


図9. 結核化学療法の新しい併用治療レジメン・研究開発 / 将来構想

- losis, *Drug Des Devel Ther*, 2015; 9 : 677-682.
- 10) Tasneen R, Li SY, Peloquin, CA, et al.; Sterilizing activity of novel TM207- and PA-824-containing regimens in a murine model of tuberculosis. *Antimicrob Agents and Chemother*, 2011; 55 (12) : 5485-5492.
  - 11) European Medicines Agency; Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) Assessment Report Delytba, 2014; (EMA/55567/2014) : 40-43.
  - 12) Dooley KE, Luetkemeyer AF, Park JG, et al.; Phase I safety, pharmacokinetics, and pharmacogenetics study of the antituberculosis drug PA-824 with concomitant lopinavir-ritonavir, efavirenz, or rifampin. *Antimicrob Agents and Chemother*, 2014; 58 (9) : 5245-5252.
  - 13) Tasneen R, Williams K, Amoabeng O, et al.; Contribution of the nitroimidazoles PA-824 and TBA-354 to the activity of novel regimens in murine models of tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015; 59 (1) : 129-135.
  - 14) Upton AM, Cho S, Yang TJ, et al.; In vitro and in vivo activities of the nitroimidazole TBA-354 against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015; 59 (1) : 136-144.
  - 15) Xu HB, Jiang RH, Li L, et al.; Linezolid in the treatment of MDR-TB: a retrospective clinical study. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012; 16 (3) : 358-363.
  - 16) Chang KC, Yew WW, Tam CM, et al.; WHO group 5 drugs and difficult multidrug-resistant tuberculosis: a systematic review with cohort analysis and meta-analysis. *Antimicrob Agents and Chemother*, 2013; 57 (9) : 4097-4104.
  - 17) TAG, An Activist's Guide to Linezolid (Zyvox) online, 09/23/2014
  - 18) Zhu T, Friedrich SO, Diacon A, et al.; Population pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of the bactericidal activities of sutezolid (PNU-100480) and its major metabolite against intracellular *Mycobacterium tuberculosis* in ex vivo whole-blood cultures of patients with pulmonary tuberculosis. *Antimicrob Agents and Chemother*, 2014; 58 (6) : 3301-3306.
  - 19) Balasubramanian V, Solapure S, Iyer H, et al.; Bactericidal activity and mechanism of action of AZD5847, a novel oxazolidinone for treatment of tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2014 ; 58 (1) : 495-502.
  - 20) Keener AB; Oldie but goodie: Repurposing penicillin for tuberculosis, *Nat Med*, 2014; 20 (9) : 976-978.
  - 21) Solapure S, Dinesh N, Shandil R, et al.; In vitro and in vivo efficacy of beta-lactams against replicating and slowly growing/nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013 ; 57 (6) : 2506-2510.
  - 22) Hazra S, Xu H, Blanchard JS; Tebipenem, a new carbapenem antibiotic, is a slow substrate that inhibits the beta-lactamase from *Mycobacterium tuberculosis*. *Biochemistry*, 2014; 53 (22) : 3671-3678.
  - 23) Horita Y, Doi N; Tebipenem, a New Carbapenem Antibiotic, is a slow substrate that inhibits the  $\beta$ -lactamase from *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014; 58 (11) : 7010-7014.
  - 24) Zumla AI, Gillespie SH, Hoelscher M, et al.; New antituberculosis drugs, regimens, and adjunct therapies: needs, advances, and future prospects. *Lancet Infect Dis*, 2014; 14 (4) : 327-340.
  - 25) Aung KJ, Van Deun A, Declercq E, et al.; Successful '9-month Bangladesh regimen' for multidrug-resistant tuberculosis among over 500 consecutive patients. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2014; 18 (10) : 1180-1187.
  - 26) Gillespie SH, Crook AM, McHugh TD, et al.; Four-month moxifloxacin-based regimens for drug-sensitive tuberculosis. *N Engl J Med*, 2014 ; 371 (7) : 1577-1587.
  - 27) Donald PR, Maher D, Maritz JS, et al.; Ethambutol dosage for the treatment of children: literature review and recommendations. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2006; 10 (12) : 1318-1330.
  - 28) Bekker A, Schaaf HS, Seifart HI, et al.; Pharmacokinetics of isoniazid in low-birth-weight and premature infants. *Antimicrob Agents and Chemother*, 2014; 58 (4) : 2229-2234.
  - 29) [www.tballiance.org/portfolio/trial/5089](http://www.tballiance.org/portfolio/trial/5089)
  - 30) Prideaux B, E Via L, Zimmerman MD, et al.; The association between sterilizing activity and drug distribution into tuberculosis lesions. *Nature Medicine*, online 7 September 2015; doi: 10.1038/nm.3937

## BSL3 実験室での結核菌の取り扱い — PPE、技術、消毒滅菌 —

山崎 利雄

国立感染症研究所バイオセーフティ管理室

### 1. はじめに

結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) は、結核を発症させる原因菌<sup>1)</sup> で 1882 年にロベルトコッホにより発見された<sup>2)</sup> BSL3 の病原体である。患者の臨床材料から分離され、同定試験<sup>3)</sup> により結核菌と同定されるとその菌の取扱いは、BSL3 実験室内で行わなければならない<sup>4)</sup>。結核菌の感染経路は、呼吸器系なので<sup>2)</sup> エアロゾルが発生しやすい菌液調整、接種、集菌、検査等の作業は、安全キャビネット内で行わなければならないが、安全キャビネット使用だけでは結核菌の感染から免れることはできない。実験者が結核菌に感染しないためには、BSL3 実験室における結核菌の安全な取り扱い技術と個人防護具 (personal protective equipment : PPE) 装着は必須である<sup>5)</sup>。今回は、臨床検査室や結核病棟に勤務する人たちではなく、BSL3 実験室を有する機関で、結核菌を取り扱う実験者が、結核菌に感染しないように心がけなければならないことや注意点等を述べたい。

### 2. 個人防護具<sup>6,7)</sup>

PPE は、実験者を結核菌の感染から守るために必要不可欠である。防護服や履物は、実験室内専用とする。帽子、マスク、手袋等は、ディスプレイ製品を用い、防護服等再利用する場合は消毒や滅菌したものを用いる。PPE は実験の前に装着し、実験室退出時には全て取り外してから退出しなければならない (図 1)。

(1) 実験着：前が開かない長袖エプロンタイプの前着、又は、つなぎタイプの防護服を着る。作業内容によりさらに使い捨てビニールの前掛け、アームカバーまたはロング手袋も装着する (図 1)。

(2) 履物：足を防護するため、爪先が隠れるタイプのスリッパや動物実験を行うときには長靴を履くことを勧める。また、使い捨ての靴カバーの使用も有用である。

(3) 帽子：頭を防護し、マスクのずれを防ぐためにかぶる。髪の毛が長い人は、まとめてから髪の毛が

帽子の外にはみ出さないようにかぶる。

(4) マスク：鼻や口から結核菌を吸い込まないために装着する。

- 1) サージカルマスクは、実験準備や観察時などに使用する。頬部が開かないようにマスクのひもで調節する (図 2)。
- 2) N95 マスクは、菌液作り、接種、集菌、解剖など結核菌が開放状態になる場合に装着する (図 3)。密着性が優れているため、長時間の作業をすると息苦しくなるので、手際良く作業を進める必要がある。



細胞実験 動物実験

図 1. 結核菌取扱い時の PPE 例



表と裏を確認



1) ひも平行装着



装着時正面



2) ひも交差装着

装着時側面

図 2. サージカルマスクの装着方法

- 1) 鼻とマスクの間にすき間ができないので感染の危険が低い
- 2) ひもを交差させると鼻とマスクの間にすき間ができるので感染の危険が高まる。

(5) 手袋：結核菌を扱っている時には、常に手の汚染の可能性がある。使い捨てのラテックス、ビニール、ニトリルの手袋が一般的に使われている。使用前に手袋に空気を入れ膨らませ、空気漏れが無い事を確認してから装着する。また、手首や袖口の汚染が起こらないような装着を心がける。手袋を袖口にマスキングテープ等で固定する事と、二重手袋の装着を勧める。結核菌の菌塊の掻き取りや菌液作り、動物接種などの作業をする場合は、アームカバーかロング手袋の装着を勧める（図4）。汚染の可能性の高い作業中に安全キャビネットからやむを得ず手を出さなければならない時には、手袋を消毒用エタノールで消毒するように心がけなければならないが、可能であれば二重手袋の外側の手袋を安全キャビネット内の滅菌缶内に捨て、新しい手袋を装着してから作業を継続することが望ましい。BSL3実験室を出る時には、必ず手袋を消毒後、袖口近くの片方の手袋を掴みあげ、汚れを飛び散らさないように静かに指先の方向へ手袋を取って行く。外した手袋を反対側の手で握る。手袋を外した手で、もう片方の手袋の袖口内側に指を入れ、指先の方向へ手袋を取って行き、静かに手袋を外し、そのまま、汚物入れに捨てたのち手洗をする。



図3. 種々の N95 マスク



図4. 手袋の装着

### 3. 技術<sup>5)</sup>

#### 3-1 エアロゾル対策

エアロゾルは、実験中のあらゆる操作時に発生すると考えるべきである。したがって、結核菌を取り扱う場合は、BSL3実験室内でPPEをつけ、安全キャビネットを使用することは、エアロゾル対策上不可欠である。しかし、安全キャビネットを用いているからと言って、多量のエアロゾルを発生させるような作業をしないように努めるべきである。

#### 3-2 基本的なエアロゾルの軽減操作

- (1) 結核菌液を扱う場合は、必ず安全ピペッターやマイクロピペッターを用いフィルター付きピペットやフィルター付きチップを使う。
- (2) ピペット使用では、中間メモリのピペットを用い、吹き出しをしない。ピペットの先端は器壁に浸けるか液中に入れる。
- (3) ピペッティング操作による混合は、ピペットあるいはチップの先端を液中に入れ注意して行う。
- (4) vortex ミキサーを用いての混合作業は、蓋付き試験管等の蓋を確実に締め、泡立たないように緩やかな回転スピードで混合する。
- (5) 大きなループの白金耳は、菌膜破裂を起こし易いので使用しない。
- (6) 弾性が強すぎる針金で作った白金耳は、飛び散りを防ぐために、固形培地への塗抹接種や集菌作業には使用しない。
- (7) 菌塊が付いた白金耳の焼灼には、硝子砂入りエタノールの中で菌塊を擦り落した後、電気焼灼器を用いて焼灼するが、ディスポーザブル白金耳の使用により焼灼を行わないほうが望ましい。
- (8) 菌塊が付着したディスポーザブル白金耳は、硝子砂入りエタノールの中で菌塊を擦り落したのち滅菌缶や滅菌バックに入れる。
- (9) 注射器内への菌液の吸引、気泡除去、容量調整、動物に注射後の抜針の際は、針先や刺入部を酒精綿で覆う。
- (10) 凍結乾燥菌体入アンプル開封時にも酒精綿で覆う。
- (11) キャップの密閉性が不十分な遠心管をアングルローターで使用する場合は、回転中に液が濡れないように液量に注意する。
- (12) 遠心分離は、バイオハザード対策がとられた遠心機を用いることが望ましい。バイオハザード対策がとられてない遠心機を用いる場合は、バイオハザード対策用バケットを使用する。

### 3-3 細胞実験に伴う曝露を招き易い事例

- (1) ピペットと安全ピペッターの接合が緩いために菌液が漏出する。
- (2) マイクロピペットのチップ装着の甘さにより菌液が漏出する。
- (3) 菌液の入った蓋付き試験管の蓋を確実に閉めずに、不適切な持ち方によって落下させた場合の菌液の散乱。
- (4) 菌液の入った試験管の傾けすぎにより菌液をこぼす。
- (5) 菌液の急激吸引によるマイクロピペッター吸込み口の汚染。
- (6) 菌液の入った試験管を立てた試験管立ての不注意による転倒。
- (7) 菌液の入った試験管や増殖コロニーのあるシャーレの蓋の無造作な開閉や閉め忘れ。
- (8) 寒天平板培地に増殖した菌の釣菌時、白金耳で菌塊を飛ばす。
- (9) バイオハザード対策をしていない遠心機を用いての集菌作業。
- (10) 遠心分離後の上清の乱暴な取り除き作業
- (11) 遠心管のキャップの締め方が不完全
- (12) 傷のある遠心管に気づかず、遠心作業を行った時の遠心管の破損。
- (13) 実験中の手袋でメガネやマスクに触る。
- (14) 実験中に安全キャビネットから手を頻繁に出し入れする。
- (15) 実験終了後直ちに汚物のオートクレーブをしないで放置している。
- (16) 安全キャビネット内に入れた物で未使用な物を、消毒しないで安全キャビネット外に出す。

### 3-4 結核菌液漏出・飛散時の処置方法

実験作業中に安全な作業を心がけていても、菌液が漏出したり飛散したりする場合があります。そのような時は、実験作業を直ちに中止し、迅速にかつ冷静に対処しなければならない。

- (1) 安全キャビネット内で結核菌液の漏出・飛散の場合の処理方法
  - 1) 微量から少量の場合は、消毒用エタノールを十分染み込ませた酒精綿をその場所に置き、しばらく放置、拭き取って滅菌缶内に捨てる。
  - 2) 多量の場合は、迅速に、吸水性の良いペーパー（ティッシュ、キムワイブ等）をかぶせて拡散を防ぐ。消毒用エタノールをかけ、ペーパーを湿らし5分間程度放置した後、汚染物を取り除き、滅菌缶内に捨てる。再び消毒用エタノールを染み込ませたペーパータオルで汚染

箇所を清拭し、ペーパータオルと汚染した手袋を滅菌缶に捨てる。新しい手袋を着け実験を再開する。実験終了後に安全キャビネット内を10分間以上UV照射したのち、器材を安全キャビネットから搬出する。実験着にも付着した可能性があるため、実験着もオートクレーブ後、洗濯に出す。

### (2) 安全キャビネット外で結核菌液の漏出・飛散の場合の処理方法

結核菌の入った容器をあやまって床に落とし、結核菌が漏出・飛散し曝露事故が発生した場合、当事者は、同室者がいる場合は、曝露事故発生を大声で実験室内の人に知らせ応援を求める。曝露を最小限にするために、漏出・飛散した菌液に吸水性の良いペーパーを汚染したと思われる範囲よりやや広範囲に被せ、拡散を防ぐ。被せたペーパーの上から、消毒液を十分にかけて湿らせてから5分間程度放置する。この間に、サージカルマスクをしている場合は、手袋消毒後、二重手袋の外側の手袋を取り、新しい手袋をつけてから、N95マスクに取り換え、汚染したペーパーを滅菌缶・滅菌バッグ等に捨て、汚染箇所を中心にやや広範囲を消毒用アルコールにて再消毒する。乾いたペーパータオルで液体を拭き取り、滅菌缶・滅菌バッグ等に捨てる。再度、消毒液を含ませたペーパーにて汚染箇所を拭き取り、汚物や手袋を滅菌缶・滅菌バッグ等に入れ、高圧滅菌後、廃棄する。また、実験着等を滅菌バッグ等に入れてオートクレーブ後、処理する。

暴露処理後、曝露の内容を、速やかに、実験室運営責任者、病原体取扱主任者などへ報告し、再発防止に努めなければならない。

### 3-5 動物感染実験<sup>5)</sup>

結核菌の動物感染実験は、通常のBSL3実験室でおこなう実験と同様に、作業による感染のリスクを伴う。病原体取扱経験の浅い人や結核菌に対する認識不十分な人は、実験指導者から適切な教育訓練を受けた後、感染動物の飼育、採血、解剖等の作業を行わなければならない。

動物感染実験では、結核菌の菌液接種、飼育、解剖、臓器の摘出、臓器の細断やホモジネート化など、ほとんどの操作でエアロゾルが発生する。そのため、BSL3動物実験施設内では、つなぎタイプの実験着を着て、PPEを着ける。特に、結核菌の接種や解剖など、感染リスクの高い作業を行う場合は、N95マスクを装着し、エプロンやアームカバー又はロング手袋をつけて、感染させた動物の取扱をしなければならない（図1）。動物飼育に関するエアロゾル

対策には、(1)エアロゾル対応型のケージまたはケージ棚を使用する。(2)飼育ケージ棚からケージを処置用安全キャビネット内に移動させる場合は、ケージを滅菌バッグに入れ、外側を消毒して移動するか、ケージにフィルターキャップをかぶせたまま移動させる。(3)ケージの床替えをする時、床敷を交換するのではなく、動物を新しいケージに移す。(4)古いケージは床敷をいれたままオートクレーブバックに入れ、外側を消毒用エタノールで消毒した後、安全キャビネットから出し、滅菌缶に入れ、両側開きの大型オートクレーブで滅菌するなどがある。

動物感染実験には、静脈内注射、皮内注射、皮下注射、腹腔内注射など注射器を使う作業が多い。注射筒と針の接合部分が確実に接合していることを確認してから作業を行う。針刺しによる曝露を起こさないために、注射器に入れる病原体量は必要最低量にして、注射器ごと専用の廃棄容器へ捨てるか、針を使用後すぐに、適切な耐貫通性容器に廃棄し、注射筒は汚物入れに捨てる。決して針のリキャップはしてはならない。そして、作業終了後に速やかにオートクレーブ後、医療廃棄物として廃棄する。もし、針刺しを起こしてしまった場合は、針刺し事故やその他の関連事故による損傷を、すぐに、全て上司などに報告し、適切なフォローアップ治療を受ける。再発防止のためにも決して隠蔽してはならない。

#### 4. 消毒滅菌<sup>6-10)</sup>

BSL3実験室で結核菌を用いて作業をする人は、結核菌感染リスクを理解し、エアロゾルを極力発生させない技術を習得する必要がある。さらに、同じ実験室、機器、器具を共用する場合もあることを考慮して、実験終了後に消毒や滅菌を必ず行わなければならない。

##### 4-1 消毒

消毒とは、病原微生物を減少あるいは減弱させて感染を防ぐための処理を意味している。結核菌に有効であるといわれている消毒剤には、グルタラール(グルタルアルデヒド)、フタラール(オルトフタル酸)、過酢酸、次亜塩素酸ナトリウム、消毒用エタノール、ポピドンヨード、過酸化水素水、クレゾール石けん水がある。それぞれの消毒薬の詳細は省略するが、人体や環境に対する安全性を考慮すると、最も使いやすいのは、エチルアルコールが70～80%に含まれている消毒用エタノールである。しかし結核菌は、消毒用エタノールに接触させても瞬時に殺菌されるわけではなく、5分以上の時間が必要である。結核菌を接種した培地(1次容器)を2次

容器に入れ、外側を消毒し、培養器に納める時には、消毒用エタノールを用いると良い。また、安全キャビネット内に入れて、オートクレーブしない器具類なども、消毒用エタノールで清拭してから安全キャビネット外に出す。安全キャビネット内の消毒にも、エタノールを用いて消毒後清拭し、殺菌灯をつけて作業を終了する。

##### 4-2 滅菌

滅菌とは結核菌はもちろん、他の微生物を完全に殺滅することである。加熱による乾熱や高圧蒸気(オートクレーブ)、 $\gamma$ 線や電子線の照射、ホルマリンガス等によるガス滅菌等の方法がある。結核菌の滅菌作業には、加熱による方法が使い易い。乾熱は、結核菌の殺菌よりガラス器具などの培養準備に用いられることが多く、結核菌の殺菌にはオートクレーブ法が一般的に用いられる。オートクレーブの条件は、121℃で15分～30分が一般的である。熱伝導性の悪いものや耐熱性のものは、より長時間処理をしなければならない。オートクレーブをするときには、蒸気が汚物に当たり易いよう、汚物を詰め込み過ぎない様に気をつけ、滅菌袋の口を完全密封するのではなく、やや緩めに口を閉じる。また、滅菌缶を用いる場合も完全密封の滅菌缶は使用しない。結核菌のオートクレーブには、通常121℃で20分間を用いるが、内容量が多い場合や、詰め込み過ぎたと思った場合には、時間を長くする。また、ねじ口のキャップ付器具は、安全キャビネット内で蓋をやや緩め、蒸気が入るようにする。さらに、滅菌バッグや滅菌缶の中に水気のない場合は、121℃の温度に確実に到達させるために、適量の水を入れることも忘れてはならない。滅菌バッグや滅菌缶の外側にオートクレーブテープを貼り付け、滅菌作業が行われたかを確認した後、オートクレーブ装置から取り出すよう心がけることも大切である。さらに、バイオリジカルインジケータを用いて、オートクレーブ装置の性能チェックや安全点検も定期的に行うことも重要である。

#### 5. おわりに

結核菌を用いる様々な実験は、感染の危険を伴うものであるということを常に意識していなければならない。実験者は、BSL3実験室を使い、個人防護具をつけ、安全キャビネットを使用する。BSL3実験室内に入室する際には、室内の気圧をチェックし、実験室が正常に機能しているかを確認し、入室記録紙に記録し、リボンや薄いペーパーを用いて安全キャビネットの性能が維持されているかを毎回確認

してから実験することも大切である。実験室内の気流や室圧管理、安全キャビネットやバイオハザード対策のとられた種々の機械類の性能点検を行って、的確に管理された実験室であっても、実験者自身が結核菌に感染しないために、必要なPPEを身につけ、個人の技術を磨くことが大切である。また、BCGワクチンを受け、結核菌に対する免疫を得ると共に、常に健康な体を維持していることが重要である。実験中に器材の不足が起こらないように実験の準備をし、集中力が散漫にならないように心掛ける。さらに、実験中に地震や火災などの非常時に備えて、対策を立てておくことも必要である。そして、実験終了後、実験室を出るまで気を緩めず、実験済み器材の消毒、廃棄物の滅菌処理、安全キャビネット内や実験台の消毒、整理整頓を怠らないようにする。BSL3実験室から出るときは、個人防護具をとり、手指の消毒と手洗いといった基本的な事を確実に行うことが結核菌に限らず、あらゆる病原体を取り扱う際の基本である。

## 6. まとめ

結核対策を行う上で、結核菌を用いた研究や結核菌検査は、重要である。研究者や検査をする人が、結核菌に感染しないために行うべきこと、実験中に心掛けるべきこと、消毒・滅菌作業を確実にし、

実験者以外の人に結核菌による感染を起こさないようにすることを述べた。実験室で結核菌感染暴露事故が皆無になることを切望している。

## 参考文献

- 1) 光山正雄編、結核、p32-39、医薬ジャーナル社、2001
- 2) 岩井和郎編、結核病学第四版、I（基礎編・臨床編）、p1-53、財団法人結核予防会、1995
- 3) 厚生省監修 結核菌検査指針、p1-47、財団法人 日本公衆衛生協会、1979
- 4) 北村 敬・小松俊彦監修、実験室バイオセーフティ指針（WHO 第3版）、p5-44、バイオメディカルサイエンス研究会、2006
- 5) 日本細菌学会編、病原体等安全取扱・管理指針、第1章病原細菌取扱の手引き、1-11、日本細菌学会、2008
- 6) バイオメディカルサイエンス研究会編、バイオセーフティの原理と実際、p86-144、みみずく社、2008
- 7) 北村 敬・小松俊彦監修、実験室バイオセーフティ指針（WHO 第3版）、第IV部基準微生物実験技術、p67-76、バイオメディカルサイエンス研究会、2006
- 8) 古橋正吉、増補版滅菌・消毒マニュアル、「滅菌・消毒法の実際」、p34-137、日本維持新報社、2001
- 9) 国立大阪病院感染症対策委員会編、厚生省保険医療局国立病院部制作医療課監修、院内感染予防対策ハンドブックーインфекションコントロールの実際ー、p16-30、南江堂、1998
- 10) 日本感染症学会編、[改訂4版] 院内感染症対策テキスト、p40-p54、株式会社へるす出版、2001

## 結核菌の運搬と管理 —関係法規、梱包、保管—

鹿住 祐子

公益財団法人結核予防会結核研究所抗酸菌部結核菌情報科

### 1. はじめに

日本における結核の集団感染の定義は「同一の感染源が2家族以上にまたがり、20人以上に結核を感染させた場合：ただし、発症者1人は6人が感染したものとして感染者を計算する」である。結核の統計<sup>1)</sup>では平成25年の集団感染は29事例で、内訳は主に事業所内、小中学校を含む学校、病院などの医療機関、特定集団が利用する施設（高齢者施設、介護施設、刑務所等）などであったが、この定義より小さい個別の結核感染も多く発生している。結核の場合、患者の治療だけでなく、周囲の社会への拡大を阻止するため病院、保健所、研究所そして地域関係者などが連携して対策を行っている。

### 2. 保健所の役割

保健所の活動は母子保健対策、精神保健対策、食品衛生関係、生活衛生関係、エイズ・難病対策、医療監視関係など多岐にわたっているが、そのひとつに感染症等対策（健康診断、患者発生の報告等、結核の定期外健康診断、予防接種、訪問指導、管理検診等：感染症法）がある。医師は、結核患者であると診断したときには、直ちに保健所に届けなければならない。そして保健所に登録されると病院と保健所、地域の関係者などが協力しながら治療が行われ、その中で「患者周辺の接触者の中にすでに感染を受けているがまだ発症していない人がいるかもしれない。」という場合、まだ発症していなければ予防内服（発症リスクの高い人に対して行われる化学療法）の可能性がでてくる。これは新たな患者発生を防ぐためである。さらにその患者の周囲で他に結核を発症した人がいた場合、この両者の結核菌を遺伝子解析することがあり、もし両者に同じパターンが得られたとき、その周囲の接触者に対して新たに定期外健康診断が検討される。感染経路の遮断である。この遺伝子解析は亜型検査とよばれ、主にVNTR（Variable Numbers of Tandem Repeats：反復配列多型分析）やRFLP（Restriction Fragment Length Polymorphism：IS6110を使用）が行われている。

業務の主体は保健所であるが、保健所が遺伝子解析を行うのではなく、病院や検査センターから患者分離の結核菌を受け取り、地方の衛生研究所や結核予防会結核研究所など解析を行っている施設に運搬している。

### 3. 結核菌の薬剤感受性試験

多剤耐性結核のように治療困難な例の場合、「病院の細菌検査室では5剤しか検査できないので、何か他に効果のある薬を捜してください」という検査依頼の時、病院や検査センターなどから結核菌が高度な検査のできる施設へ運搬されることがある。

その薬剤感受性試験は病院の細菌検査室や検査センターなどで行われているが、標準法だけでなく、簡易法もあり、使用する培地も固形培地・液体培地など様々である。これらから得られる検査結果が施設によって異なると治療方針だけでなく耐性菌を生む要因になりかねない。そこで薬剤感受性試験の精度保証が重要となる。例えば、日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会が2011年まで毎年1回のパネルテスト（Panel Testing/Proficiency Testing）を行っていた。これは外部施設が技術の向上のために病院や検査センターなど安全キャビネットを用いて薬剤感受性試験を行っている施設に結核菌を送り、その施設で行われた検査の結果を評価する方法である。これは薬剤感受性試験の技術面のサポートとしてだけでなく、精度の高い検査結果に基づいて治療を行うことを可能にし、結核対策の重要な要素のひとつである。

### 4. 病原体運搬に関係した法規

病原体の運搬については感染症法、航空危険物規則、内国郵便約款、家畜伝染病予防法、旅客自動車運送事業運輸規則、各運送会社の約款などがあるが、中でも感染症法と航空危険物規則に詳しく書かれている。

#### 4-1 感染症法<sup>2)</sup>

テロ対策として感染症法が2007年6月1日に施

行され、「感染症法に基づく特定病原体等の管理規制」に施設の基準、保管等の基準、運搬の基準の他に教育訓練、滅菌譲渡、記帳の義務、事故届、災害時の応急措置、病原体等取扱主任者、感染症発生予防規程の作成などが書かれており、一から四種の特定病原体等（以下、一種、二種、三種、四種とする）の確定された培養菌が対象となっている（表1はオリジナルの表の一部を抜粋した）。

#### (1) 結核菌に関すること

- 1) 結核菌はINH（イソニコチン酸ヒドラジド）、RFP（リファンピシン）その他結核の治療に使用される薬剤として制令で定めるものに対して耐性を有する結核菌が三種であり、三種以外の結核菌は四種である。
- 2) 確定された培養物が対象となるが、意図的に特定病原体等を添加したものであれば三種が添加されたものは三種、四種が添加されたものであれば四種として扱う。臨床検体は感染症法の規制対象外であるが、感染症法の運搬基準に準じた方法で運ぶことが望ましい場合など個別判断すべきケースがある。例えば、結核菌が含まれていることが高度に確実な喀痰検体（塗抹染色・顕微鏡検査陽性など）は、培養物と同等に考えるべきであるという意見がある。

#### (2) 運搬に関すること

- 1) 事業所の外において運搬する場合、一種、二種、三種は各都道府県の国家公安委員会（以下、公安委員会）へ届け出なければならない（表2）。
- 2) 違反には罰則がある。
- 3) 三種と四種の運搬について、厚生労働省HPの感染症法に基づく特定病原体等管理規制について「7 特定病原体等の安全運搬マニュアル」<sup>2)</sup>に詳しく書かれている。

#### 4-2 航空危険物規則<sup>3-5)</sup>

航空危険物規則書（以下、規則書）における危険物は火薬類・ガス類・放射性物質・毒物及びウイルスを移しやすい物質（ウイルス）など9つに分類されており、その取り扱いが航空危険物規則に従っている。

##### (1) 主な特徴

- 1) 安全輸送のための規則である
- 2) 規則書では危険物輸送の責任は荷送人（荷主<sup>\*</sup>）と航空会社の二者のみが責任の主体と規定されており、航空貨物運送会社に対しては一切の責任が言及されていない。特に危険物の判定、分類、梱包、表示、ラベリング、書類作成まですべて荷送人（荷主）責任となっている<sup>5)</sup>。

※荷主：通常、荷送人か荷受人が荷主であるが、運搬に直接関わる・関わらないはともかく、その運搬・検査を依頼した（必要とした）施設が他にある場合がある。

- 3) 規則書は荷送人（荷主）責任、梱包（容器、ラベリングとマーキングなど）と航空会社への危険物申告書作成が中心である。
- (2) 感染性物質に関すること
  - 1) 第6分類のウイルスを移しやすい物質はカテゴリAとBに分かれている。
  - 2) カテゴリAは規則書にリスト（表1はオリジナルの表の一部を抜粋した）が掲載されており、ほとんど特定病原体等と同じである。
  - 3) カテゴリAは危険物申告書を航空会社に提出し（表2）、国連規格容器を使用した上で三重梱包する。カテゴリB（非結核性抗酸菌の培養物、病院の臨床材料など）は国連規格容器の使用は必須ではないが、一定の条件を満たした容器に入れ三重梱包でなければならない。危険物申告書の提出は必要ない。しかし、ウイルスを含む可能性がほとんどない治療者の検体材料などのExempt human specimenは三重梱包し、Exempt情報を表示することで非危険物扱いとなる。尚、輸血用血液、臓器移植用の臓器、無力化・不活化したもの、Dried blood spotなどは対象外である。
  - 4) カテゴリAとして確定されていなくとも、疑いのある場合も含まれる。
  - 5) リストにないウイルスでもカテゴリAとして扱った方がいいと判断されるものはAとして運搬され、その判断については専門家に相談する。
  - 6) カテゴリAは培養物だけが対象となることもあるが、場合によっては臨床材料も適応される（表1）。
  - 7) 航空機輸送ではカテゴリAと特定病原体等は航空貨物扱いとなる。

#### 5. 梱包<sup>2-7)</sup>

##### 5-1 国連規格容器の使用

規則書のカテゴリAと感染症法の特定病原体等のリストにある対象物は国連規格容器（UN Container）を使用しなければならない（写真1）。この容器は国連が定めた厳しい検定条件（落下試験、冷却試験、水噴射試験など）に合格したもので、市販されており、プラスチック製の二次容器と頑丈なダンボール製の外装容器（三次容器）の組み合わせで

表1. 対象となる微生物の例

感染症法 ※1	航空危険物規則書(2015年現在) ※2
<b>1. 一種の例</b> ・アイボリーコレストエボラウイルス ・レイグビグリアマールブルグウイルスなど	<b>1. カテゴリーAの例(疑いを含む)</b> ・エボラウイルス ・マールブルグウイルス
<b>2. 二種の例</b> ・SARSコロナウイルス ・ポツリヌス毒素 ・ポツリヌス菌 ・炭疽菌など	・ポツリヌス菌(培養物) ・炭疽菌(培養物)
<b>3. 三種の例</b> ・SFTSウイルス ・狂犬病ウイルス ・MERSコロナウイルス ・制令で定める薬剤に耐性を持つ結核菌など	・狂犬病ウイルス(培養物) ・結核菌(培養物) ※菌種別に耐性・感性の区別はない
<b>4. 四種の例</b> ・三種結核菌以外の結核菌 ・腸管出血性大腸菌 ・デイズンテリエ(赤痢菌) ・エンテリカ(タイフoidサルモネラ) など	・ペロ毒素産生性大腸菌(培養物) ・志賀赤痢菌 I 型(培養物) など

※1 確定された培養物が対象となる。  
 ※2 培養物の記載のあるものは培養物のみ、記載のないものは培養物と臨床材料も対象となる。

表2. 公安委員会と航空会社への提出書類

	公安委員会へ 届出※1	航空会社へ 危険物申告書※2
三種病原体等(結核菌)	必要	必要
四種病原体等(結核菌)	なし	必要
結核菌である確定が できていないが疑い のある培養物	なし	必要

※1: 事業所の外において運搬する場合  
 ※2: 輸送経路に空路が含まれる場合

ある。一次容器と二次容器は防漏型で-40℃から55℃までの温度範囲で95kPa(キロパスカル)の内圧に漏洩することなく耐えられるものでなければならない。カテゴリーAは内容物が液体である場合、内容物が漏れても十分に吸収できる吸収材に包むことになっている。寒天培地や卵の培地などは液体ではないが、一気に圧力をかけた場合、中の水分が出てくる。不測の事態を考え固形物であっても十分な吸収材に包むことを勧める。そして外装容器外側に「UN2814 病毒を移しやすい物質」を明記し、危険物ラベルと相対する2面に天地無用のラベルを貼る。箱の後ろ側に荷送人住所・荷受人住所・緊急時連絡先を書く(写真1)。

5-2 ゆうパックで送る場合の梱包

「感染症発生動向調査事業等においてゆうパックにより検体を送付する際の留意事項」<sup>2)</sup>を遵守し、講習会を受講し各都道府県に登録された包装責任者が地元の郵便局にて感染性物質の運搬について説明

する。そしてラベリングやマーキングを完成させた国連規格容器に結核菌を入れ、さらにジュラルミンケース(写真2)に入れて郵便局の窓口で病毒物であることと航空輸送禁止を告げ、送り状にも四種は「病原体・危険物」、カテゴリーBは「臨床検体・危険物」を記載する。尚、郵便局窓口で開披を求められた際には、拒むことなく開披するが、開披する場所はバイオセーフティを考慮しなければならない。

6. 輸送手段

6-1 荷送人・荷受人・荷主

三種・四種共に荷送人(例 病院)・荷受人(例 研究所)又は荷主(例 保健所)が車か航空機を利用して運搬することができる。

6-2 航空貨物取扱運送業者

運送会社に委託することも可能である。主に航空貨物取扱運送業者であるが、病原体等運搬の専門的な知識を有し、事故時対応のできる業者を選択しなければならない。日本では三種・四種結核菌の運搬を委託できる業者は少なく、公に行っているのは1社であるが、施設で契約して行っている運送会社もあるので確認が必要である(表3)。

6-3 宅配業者

宅配業者の場合、病毒物の培養物だけでなく非病原性微生物疑いの綿棒も含めて、会社の約款などでこれらの運搬はできないことがあり必ず確認する。

6-4 ゆうパック

四種であればゆうパックを使うことができるが、非病原性の臨床材料が運搬中に破損事故<sup>7)</sup>を発生し、感染性物質運搬全般に影響したことがあり、登



写真1. カテゴリー A (特定病原体等) の梱包の例



写真2. ゆうパックで送る場合の例

表3. 輸送手段

	航空貨物	荷送・荷受施設	郵便局
三種病原体等(結核菌)	○	○	×
四種病原体等(結核菌)	○	○	○※1
結核菌である確定ができていないが疑いのある培養物	○	○	○※1
※1: ゆうパックで送る場合は航空輸送禁止			

録された包装責任者はその責任を負わなければならないことがある。尚、ゆうパックで病毒物を送るとき、航空輸送禁止である。

## 7. 公安委員会への届出 (三種の結核菌運搬の場合)<sup>2)</sup>

### 7-1

三種の結核菌を運搬する場合、公安委員会に運搬の届出を行い、運搬証明書の交付を受けなければならない。この届出の目的は突発的な事故などによって運搬物が漏れる、あるいは紛失するなどに対して事前に打ち合わせ(届出)を行うことで迅速に協力

体制を整えるためである。三種の運搬の届出を受付けている国家公安委員会は、警視庁と各都道府県の県警本部に置かれている。法律上、運搬届出の提出先は「都道府県公安委員会」となっているが、実際は県警本部の危険物行政担当が窓口となっている。病原体等の運搬を安全かつ円滑に行うために輸送経路と時間をチェックし、テロ等の危害発生の可能性や経路における交通状況を把握し、容器も適切なものが使用されているか確認している。

### 7-2 三種結核菌の「運搬の届出」の例

(1) 各都道府県の県警本部に電話で相談する。電話番号は厚生労働省 HP 特定病原体等管理規制

「9 届出対象病原体等運搬届出書」に各都道府県の連絡先一覧表があるので参照する。

- (2) 運搬の届出を行うことができるのは、荷送人・荷受人・荷主・運搬を委託された運送会社であるが、事前に責任の所在を明確にしておくことが肝心である。

※輸入する場合の運搬の届出は輸入代行者・実際に使用する輸入者・荷主・運搬を委託された運送会社が行うことができる。

- (3) 届出用紙の下書きができた段階で一度公安委員会の担当者に見てもらおう。
- (4) 届出者（届出を行う施設の代表者）の公印を押した届出用紙を出発地の公安委員会に提出し、運搬の詳細な打ち合わせを行う。

例「当日の交通情報と気象情報に注意してください」、「予備の車と運転手は用意してありますか」、「事故時の緊急時連絡網を知っていますか」、「消毒薬などの携行器材は準備してありますか」など

- (5) 運搬証明書の交付を受ける（届出から届出対象病原体等運搬証明書の交付までかかる日数は移動する範囲が同一県内であれば最低1週間、複数の県になる場合は最低2週間である。）
- (6) 消毒薬・マスク・手袋・イエローカードなどの携行器材を準備する。
- (7) 届出対象病原体等運搬証明書を運搬当日携帯する（コピーは不可）。
- (8) 運転者と知識を有する同行者が必要であり、どちらかが運行責任者となる。

※三種運搬の同行者に求められる知識とは、例えば、交通事故による病原体等の漏えいに病原体が拡散しないよう適切な対応ができる者を行い、関係機関への連絡、安全確保、防護具を着用して病原体の漏えいの有無を確認する、適切な消毒ができるなどである。病原体等取扱主任者の要件と同等の要件を満たす者又は、講習会受講終了者である。

- (9) 運搬完了後は運搬経路に関係した公安委員会に運搬証明書を返納する。例 経路が東京→埼玉県の場合、警視庁あるいは埼玉県警本部に返納。
- (10) 特定病原体等の運搬マニュアルと公安委員会に提出した届出内容に従って運搬する。
- など。

## 8. 四種を運搬する場合

同行者は求められていないが、運転者は必要に応じて病原体等の安全な取扱いに関する資料の確認な

ど安全確保に務め、四種であっても事故時は運転手若しくは代わる者が緊急連絡網に従って関係機関等へ適切に連絡する<sup>2)</sup>。

## 9. 受け取った後の所持の届出<sup>2)</sup>

### 9-1

一種、二種を所持する場合は大臣許可が必要であるが、三種は地方厚生局に所持の届出を行うのみである。三種を外部施設から受け取る場合、予め三種病原体等所持の届出を行った施設であるか、あるいは所持してから7日以内にその事業所を管轄する地方厚生局に以下の書類を提出しなければならない。

### 9-2 所持の届出内容

- (1) 三種病原体等所持届出書
- (2) 法人の場合は法人の登記事項証明書
- (3) 三種病原体等取扱施設を中心とし、縮尺及び方位を付けた事業所内外の見取り図
- (4) 病原体等の取扱いに係る部屋の間取り（用途及び出入口、管理区域、標識を付ける箇所を示し、かつ縮尺及び方位を付けた平面図）
- (5) 病原体等を取り扱う主要部分の縮尺及び方位を付けた立面図
- (6) その他当該届出に係る三種病原体等取扱施設が法56条の24に規定する三種病原体等取扱の位置、構造及び設備の技術上の基準に適合していることを説明した書類

### 9-3 輸入後（通関後）

三種の結核菌は7日以内に三種病原体等輸入届出書を所持する事業所を管轄する地方厚生局に輸入の届出を提出する。ただし、輸入した段階で所持の届出が済んでいない施設はこの時所持の届出も行う。

### 9-4

四種に所持の届出と輸入の届出は必要ない。

## 10. 受け取った後の保管<sup>2)</sup>

「保管の基準」では三種・四種共に密封できる容器に入れて、施錠可能な保管庫にて行う。その保管庫の設置は三種であれば管理区域内の鍵のかかる保管施設内で行い（図1）、四種の保管庫の設置は実験室内でなくとも管理区域内の設置であればよい。

## 11. 三種を受け取った後の管理<sup>2)</sup>

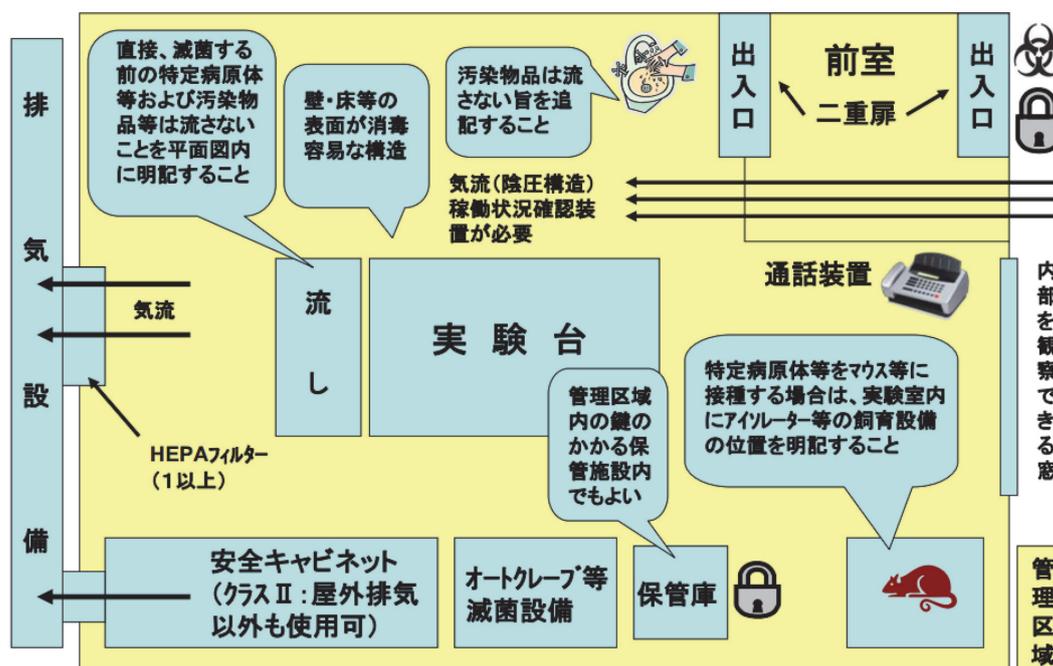
### 11-1

四種に「記帳の義務」はないが、三種の結核菌を受け取った場合、台帳を作成しなければならない。

### 11-2 記帳内容

- (1) 病原体等の受入れ又は払出しの年月日時間と氏名

### 実験室の施設基準例示(三種病原体等でBSL3相当に分類されるもの)



詳細は、ホームページを参照下さい。 <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou17/pdf/03-05.pdf>

図1. 厚生労働省 HP 感染症法に基づく特定病原体等の管理規制より

- (2) 病原体等の種類
- (3) 保管方法・保管場所
- (4) 病原体等及び汚染された物品の滅菌等の年月日
- (5) 実験室への立ち入り又は退出の年月日
- (6) 三種病原体等取扱施設の点検の実施年月日、点検の結果及びこれに伴う措置の内容並びに点検を行った者の氏名

## 12. おわりに

危険物輸送の基本原則は「危険物は本来公共交通機関では輸送禁止であるが、その危険性を発揮できないようにし、安全が確保されていれば輸送を許可する」というものである<sup>5)</sup>。結核菌だけでなく一般社会にまだ病原体の運搬が受け入れられているとは言えず、万が一、交通事故などによって病原体等の容器が破損し、中身が目視確認できない場合も、運搬時であれば「緊急連絡体制」(災害時は「緊急時対応マニュアル」)に従って専門家や関係者の意見を聞き、「大丈夫」と過小評価することなく対応しなければならない<sup>2)</sup>。

## 13. まとめ

病原体等の検査や研究は必要とされる目的が行われている。運搬と保管はバイオリスクマネー

ジメント・バイオセキュリティにおいて非常に重要であり、盗難に備えることは勿論であるが、災害時に試験管が割れるなどの汚染に備えて、密封容器に入れて鍵のかかる保管庫に入れることは拡散を阻止し、封じ込めるために必要なことである。これはバイオセーフティの基本であり、危険物に指定されている微生物は勿論であるが、非病原性微生物・臨床検体であっても社会から信頼される運搬・管理を選択し、医療関係機関だけでなく、行政・民間企業などと一般社会が共通の目的意識を持ち、日頃から情報交換を行うなどの相互理解が必要と思われる。

## 参考文献

- 1) 結核の統計 2015: 公益財団法人結核予防会 編集・発行
- 2) 厚生労働省感染症法における特定病原体等の管理規制 HP: [http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/kekkaku-kansenshou17/03.html](http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/kekkaku-kansenshou17/03.html)
- 3) 航空危険物規則書 56 版: 2015 年発効
- 4) 世界保健機関 (World Health Organization): Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2011-2012: applicable as from 2011: 日本語版 翻訳・監修 国立感染症研究所
- 5) 丸尾進: 病原体等の航空安全輸送規則の概要. JBSA Newsletter. 2015; 5: 16-28.

6) 国立感染症研究所バイオセーフティ管理室 HP :  
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/from-biosafe.html>

7) 伊木繁雄：我が国における病原体輸送の課題と現実.  
モダンメディア. 2012 ; 58 : 329-336

## 結核症の治療 — HIV 感染症と結核 —

永井 英明

国立病院機構東京病院呼吸器センター

### 1. はじめに

細胞性免疫は結核の感染防御を担っており、この機能が著しく低下するヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus: HIV) 感染症では結核の感染・発病のリスクは極めて高い。

日本の結核罹患率は人口 10 万対 15.4 (2014 年) であり、結核については中蔓延国である。また、後天性免疫不全症候群 (acquired immune deficiency syndrome: AIDS) 患者を含む HIV 感染者数は 1546 人 (2014 年) とやや減少したものの (2013 年: 1590 人)、高止まりしている。このような状況下では、HIV 感染症合併結核 (HIV/TB) 症例に遭遇する機会は常にある。

結核患者における HIV 感染症の合併頻度については、HIV 陽性率が結核患者全体では 3.2%、HIV 感染症が疑われなかった症例では 1.0%、粟粒結核では 28.6% という報告があるが<sup>1)</sup>、このデータは結核患者も HIV 感染者も多い東京地区のデータである。結核病床を多く抱える国立病院機構病院における結核患者の HIV 陽性率について調査したところ、2007-2014 年では、各年 0.23-0.46% (平均 0.37%) とほぼ一定であった<sup>2)</sup>。

抗 HIV 療法 (antiretroviral therapy: ART) が導入されてから HIV 感染症の予後は著明に改善し、AIDS 関連疾患の減少と HIV 感染者の死亡率の減少が認められている。ART は HIV 感染症における結核の合併リスクを減少させたという報告は多数みられ、ART の開始は結核発病予防に大きく寄与しているが、それでも依然として一般人口より結核合併リスクは高い<sup>3-5)</sup>。

### 2. HIV/TB の特徴

結核菌は HIV 感染症に合併する日和見感染症を引き起こす病原体の中では比較的強毒性のため、結核は早期 (CD4 陽性 T リンパ球 [CD4] 数 300~400/ $\mu$ l) から合併しやすい。合併した結核の進行は速く、発症から診断までの期間が非 HIV 感染者の 1/3 といわれている<sup>6)</sup>。免疫機能が低下している

ため、肉芽腫の形成や乾酪性壊死や空洞形成は起こりにくい。したがって、HIV/TB では結核菌の塗抹陽性率が低く、感染性が低いといわれている<sup>7)</sup>。再発した場合、内因性再燃よりも再感染の率が高く、多剤耐性菌に再感染することがある<sup>8,9)</sup>。

### 3. 臨床症状

症状は、発熱、倦怠感、体重減少、盗汗、咳嗽、喀痰などで、非 HIV 感染者の結核と同様であるが、他の日和見感染症にもみられる症状である。

HIV 感染症に合併した結核では、肺外結核の頻度が高いのが特徴である。肺外結核としては、リンパ節結核および播種型が最も多い。他に消化管、泌尿生殖器、中枢神経系の結核もしばしばみられる。HIV 感染症では全身のあらゆる臓器に結核を発症するリスクがあり、症状により肺以外の臓器の疾患が考えられても、結核を鑑別に入れるべきである。

### 4. 検査所見

#### 4-1 画像所見

胸部 X 線像では、免疫機能が比較的保たれている時期 ( $CD4 \geq 200/\mu$ l) では、肺尖部に空洞形成を伴う典型的な像を呈する。しかし、免疫能が低下した時期 ( $CD4 < 200/\mu$ l) では、下葉の病変、非空洞

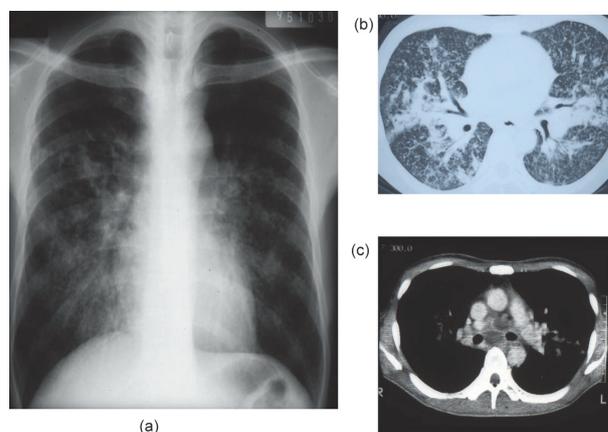


図 1. HIV 感染症に合併した粟粒結核

形成、肺門・縦隔のリンパ節腫脹、粟粒影などの非典型像を認めるようになる(図1)。胸部X線像で異常陰影を認めない症例もある。造影CTでは縦隔リンパ節腫大が明確となり、内部が低吸収で辺縁が高吸収となる rim enhancement が認められることがある(図1c)。

#### 4-2 抗酸菌検査

診断は検体からの結核菌の検出によって行われる。

HIV/TBでは空洞例が少ないので喀痰塗抹陽性の頻度が低い。しかし、高張食塩水超音波ネブライザーを用いた誘発喀痰による結核菌検出率が高いので、積極的に行うべきである。HIV/TBにおいて、喀痰塗抹陰性あるいは喀痰の喀出困難例119例に誘発喀痰検査を行ったところ、塗抹陽性率27%、培養陽性率72%であったという報告がある<sup>10)</sup>。誘発喀痰検査は気管支鏡検査に匹敵する結核菌の検出率を認めたという報告もある<sup>11)</sup>。

HIV/TBでは血液培養での結核菌の検出率が高いので必ず行うべきである。抗酸菌血症の頻度が、CD4<100/ $\mu$ lでは49%、101~200/ $\mu$ lでは20%、201~300/ $\mu$ lでは7%、>300/ $\mu$ lでは0%と、免疫機能が低下した症例ほど高いという報告がある<sup>12)</sup>。

結核菌を検出した場合、必ず感受性検査を行う。感受性の結果は抗結核薬を選択する際に欠かせないからである。

#### 4-3 インターフェロン $\gamma$ 遊離測定法 (Interferon-Gamma Release Assay : IGRA)

HIV感染症における結核感染の診断においては、ツベルクリン反応の感度は低下するが、IGRAの感度は良好である<sup>13)</sup>。HIV感染症ではT-SPOT<sup>®</sup>.TBのほうがQuantiFERON<sup>®</sup>-TB Goldよりも感度が良好という報告が多い<sup>13)</sup>。しかし、CD4数が低値の場合はIGRAにおいても判定不能となることがあり、ARTによりCD4数が増加してから再検すべきである。

## 5. HIV/TBの治療

### 5-1 HIV/TBの治療上の問題点

HIV感染症合併結核の治療を行う上で注意すべき点としては、主に以下の3点が挙げられるが、両者の治療を並行して行う場合の薬剤の多さが患者の負担になる場合もある。

#### (1) 薬剤の副作用が起りやすい

HIV感染症では薬剤の副作用が起りやすく、細心の注意を払う必要がある。特に、抗結核薬では皮疹と肝障害の副作用が多い。抗結核薬と抗HIV薬を同時に内服する場合は両者の副作用を生じる可能性が高く、原因薬剤の同定が困難となるだけでな

く、すべての治療を中断せざるを得ない状況に追い込まれることがある。

(2) rifamycin系薬剤と抗HIV薬との間に薬剤相互作用がある

rifamycin系薬剤 (rifampicin (RFP)、rifabutin (RBT)、rifapentine) は cytochrome P450 (特に CYP3A4) の誘導作用が強い。CYP3A4により代謝されるプロテアーゼ阻害薬 (PI) や非核酸系逆転写酵素阻害薬の血中濃度は、rifamycin系薬剤を併用することにより著しく低下し、抗HIV作用は低下する。したがって、両薬剤と rifamycin系薬剤との併用は注意が必要である。

結核の治療中に上記2系統の抗HIV薬を開始する場合は、RFPよりもCYP3A4の誘導が弱いRBTを用いるほうが抗HIV薬の選択肢は多い。efavirenz (EFV) はRFPとの併用が可能であり<sup>14)</sup>、RFPをベースにした結核治療にEFVをベースにしたARTを行った場合、副作用も少なく、HIVの十分な抑制が可能である<sup>14)</sup>。EFVの投与量は600mg/日でよいが、体重が60kg以上では800mg/日に増量すべきであるという意見がある<sup>14)</sup>。

RFPをPIと併用するとPIの血中濃度は90%以上低下してしまうので、両者の併用は禁忌である。RBTをPIと併用した場合、ritonavirブースト (ritonavirを併用することにより、血中濃度を上昇させること) PIではPIの血中濃度はほとんど影響受けないが、RBTの血中濃度が上昇し、RBTの副作用(ぶどう膜炎、好中球減少、肝機能障害)が起りやすくなる。そこでRBTを150mg/日あるいは300mg/週3回に減量する<sup>14)</sup>。しかし、RBTの副作用については注意深い経過観察を行わなければならない。

インテグラーゼ阻害薬であるraltegravir (RAL) は主にUDP-glucuronosyl transferase 1A1 (UGT1A1) によるグルクロン酸抱合によって代謝される。RFPは強力なUGT1A1誘導剤であり、併用するとRALの血漿中濃度が低下する可能性がある。RFPと併用する場合、RALを倍量すなわち800mg 1日2回投与にするとAUC、 $C_{max}$ は維持されるので併用禁忌とはならないが、トラフ値が低値となる可能性があることを知っておかなければならない。RBTとRALの併用は可能であり、RALは常用量でよい。同様にdolutegravir (DTG) もRFPと併用の際には、50mg 1日2回投与に増量し、RBTとの併用時には常用量である50mg 1日1回投与である。RFPおよびRBTはelvitegravirの血中濃度を低下させてしまうので、併用禁忌である。

Rifamycin系薬と抗HIV薬の併用方法については、

表1. 抗 HIV 薬と rifamycin 系薬剤との併用

	抗HIV薬	Rifabutin (RBT) との併用	Rifampicin(RFP)との併用
プロテアーゼ 阻害薬 (PI)	RTV ブーストあり		
	ATV+RTV	RBT 150mg 1日1回、または300mg 週3回	不可
	DRV+RTV		不可
	FPV+RTV		不可
	LPV/r		不可
	SQV+RTV		不可
	TPV+RTV		不可
	RTV ブーストなし		
ATV	RBT 150mg 1日1回、または300mg 週3回	不可	
非核酸系逆転写酵素阻害薬(NNRTI)	EFV	RBT 450mg-600mg 1日1回 または600mg 週3回	EFV 600mg 1日1回、体重>60kgではEFV 800mgという意見あり
	ETR	ETRおよびRBT(300mg)の投与量調整する必要なし、ETRをRTVブーストPIと併用するときは併用は禁忌	不可
	NVP	NVPおよびRBTの投与量調整する必要なし	不可
	RPV	RPV 50mg 1日1回	不可
インテグラーゼ阻害薬	RAL	RALおよびRBTの投与量調整する必要なし	RAL 800mg 1日2回
	EVG	不可	不可
	DTG	DTGおよびRBTの投与量調整する必要なし	DTG 50mg 1日2回に増量
CCR5受容体拮抗薬	MVC	CYP3A4 inducerやinhibitorとの併用が無いときは、MVC 300mg 1日2回、CYP3A4 inhibitorとの併用時は、MVC 150mg 1日2回。	原則不可、やむをえず使用する場合はMVC 600mg 1日2回、CYP3A4 inhibitorとの併用時は、MVC 300mg 1日2回

文献14)より引用

表1を参照されたい<sup>14)</sup>。

(3) 免疫再構築症候群 (immune reconstitution inflammatory syndrome : IRIS) が起こることがある。結核治療中に早期に ART を開始した場合、結核の一時的悪化をみることがある<sup>15)</sup>。症状・所見としては高熱、リンパ節腫脹、胸部 X 線所見の悪化 (肺野病変および胸水の増悪) などが見られる。この反応は細胞性免疫能が回復し、生体側の反応が強くなったために引き起こされると考えられている。IRIS は CD4 陽性リンパ球数 (以下、CD4 数) が低いほど、ART の開始が早いほど発症しやすく、結核の治療を開始後、2 カ月以内に ART を始めた場合に高率に見られる<sup>16)</sup>。

IRIS と診断された場合は抗結核薬の変更は必要ないが、症状が強い場合は抗炎症剤や短期の副腎皮質ステロイドの投与を行い、重症例では抗 HIV 薬の中止が必要になることがある。

### 5-2 治療法

感受性結核菌であれば、非 HIV 感染者における結核と同様に抗結核薬によく反応する。治療法としては、isoniazid (INH)、RFP、pyrazinamide (PZA)、ethambutol (EB) (あるいは streptomycin) の 4 剤を 2 カ月間投与し、その後 INH、RFP の 2 剤を 4 カ月継続して、全治療期間を 6 カ月とする、いわゆる短期療法でよいとされている<sup>17)</sup>。しかし、6 カ月治療では再発率が高く、治療期間を延長した方がよい

という報告があり<sup>18)</sup>、適切な治療期間については議論がある。臨床的に効果の遅い症例や 3 カ月以上結核菌の喀痰培養が陽性の症例では治療期間を 3 カ月間延長すべきである。

多剤耐性菌の場合は予後不良であるが、感受性の残った薬剤とニューキノロン製剤などを用い、長期の治療が必要となる。米国では 1992 年までに多剤耐性結核菌による結核の集団発生があり、発病した患者の 80% 以上は HIV 感染者であり、死亡率は 72-89% (全経過 4-16 週間) であったという<sup>19)</sup>。しかし、ART の導入もあり、MDR-TB の予後は改善しているという報告が見られるようになってきた<sup>20)</sup>。

### 6. ART の開始時期

結核の診断がついたときに、すでに以前より ART を行っている患者では、ART がウイルス学的に有効であれば抗 HIV 薬はそのまま継続しながら、結核の治療を開始する。ただし、ART の内容により、rifamycin 系薬との相互作用に注意する。ART がウイルス学的に有効でなければ中止し、結核の治療を優先する。

結核の診断がついた時点で抗 HIV 薬の投与を行っていない症例については、結核の治療を優先する。結核の治療を失敗した場合、死に至る可能性があるためだけでなく、周囲への二次感染を引き起こし、多剤耐性結核菌の出現をもたらす可能性がある

からである。

結核の治療開始後に新たに ART を開始する場合は、【4-1. HIV/TB の治療上の問題点】で示した3点についての配慮が必要であり、いつから ART を開始すべきか悩む症例が多い。

2011年10月に ART の開始時期について3つの論文 (randomized controlled trial)<sup>21-23)</sup> が発表された。各論文で ART の開始時期については多少の差異があるが、結核の治療開始後2週~4週以内に ART を開始する早期群と8週~12週に開始する遅延群について死亡あるいは AIDS 指標疾患の合併を end point として比較している。Blanc らによれば<sup>21)</sup> (対象は  $CD4 < 200/\mu L$ )、早期群は遅延群に比較して有意に死亡を減らした。しかし、Havlir ら<sup>22)</sup> (対象は  $CD4 < 250/\mu L$ ) および Abdool Karim ら<sup>23)</sup> (対象は  $CD4 < 500/\mu L$ ) の論文では、両群において死亡あるいは AIDS 指標疾患の合併に差がなかった。ただし、 $CD4 < 50/\mu L$  の免疫不全進行例では早期群の方が予後が良好であった ( $CD4 \geq 50/\mu L$  では差が無かった)<sup>22,23)</sup>。いずれの論文でも早期群で IRIS の合併頻度が高率であった。

以上の論文から考えると、 $CD4 < 50/\mu L$  の免疫不全進行例では結核の治療開始後2週目に ART を開始し、 $CD4 \geq 50/\mu L$  では結核の治療開始後8週~12週に ART を治療開始することが勧められ、米国保健福祉省 (Department of Health and Human Services; DHHS) ガイドライン (2012年3月版以降) は以下のような ART 開始時期についての指針を出した<sup>14)</sup>。

- (1)  $CD4 < 50/\mu L$ : 結核治療開始後2週間以内に ART を開始する (AI)。
- (2)  $CD4 \geq 50/\mu L$ :
  - 1) 臨床的に重症例 (Karnofsky score 低値、BMI 低値、Hb 低値、アルブミン低値、臓器障害、広範な結核病変): 結核治療開始後2~4週間以内に ART を開始する。(BI:  $CD4$  50-200/ $\mu L$ , BIII:  $CD4 > 200/\mu L$ )
  - 2) 臨床的に重症でない: 結核治療開始後8~12週間以内に ART を開始する。

(AI:  $CD4$  50-500/ $\mu L$ , BIII:  $CD4 > 500/\mu L$ )

しかし、 $CD4 < 50/\mu L$  では IRIS を高率に合併する。髄膜炎、心膜炎、呼吸不全などの重症結核では IRIS を起こした場合、致命的になる可能性が高いので、ART の早期開始は勧められないだろう<sup>24)</sup>。早期群では副作用により ART の薬剤変更を行った例が有意に多かったという指摘もあり<sup>23)</sup>、結核薬4剤、ART3剤、日和見感染症予防薬等の多剤を服薬

せざるを得ない状況ではやはり副作用には注意が必要である。多剤耐性結核菌や耐性 HIV の場合は、薬剤の選択がさらに複雑になり、慎重な判断が求められる。

## 7. おわりに

わが国では HIV 感染症に対する国民の関心が以前より低くなっている印象がある。しかし、HIV 感染者が激減しているわけではなく、HIV 感染症と知らずにいて、いきなり AIDS 発症という形で入院してくる患者が、後を絶たない。HIV 感染症は防ぎうる疾患であり、社会の関心を再度高めて感染者数を減らせば、HIV/TB 合併例も当然減少するであろう。

## 8. まとめ

HIV 感染症では結核の合併リスクが高い。日本は結核の中蔓延国であり、結核患者では HIV 検査は必須である。HIV/TB の治療では、薬剤の副作用、rifamycin 系薬剤と抗 HIV 薬の相互作用、IRIS の合併などの考慮すべき事項が多く、難渋する。結核の治療開始後、早期に ART を開始することにより死亡が減少するとの報告から、ART の開始時期は早まっている。しかし、ART の開始時期は個々の症例毎に慎重に検討すべきである。

## 参考文献

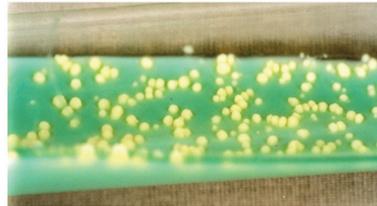
- 1) 永井英明, 川辺芳子, 長山直弘ほか: 結核患者における抗 HIV 抗体陽性率の検討. 結核 76: 679-684, 2001
- 2) 永井英明, 平成26年度厚生労働科学研究委託費 (新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業) 『多剤耐性結核の分子疫学的解析、診断・治療法の開発に関する研究 (服部班)』「NHO 病院における HIV 合併多剤耐性結核の実態調査に関する研究」(in press) 2016
- 3) Gupta A, Wood R, Kaplan R, et al. Tuberculosis incidence rates during 8 years of follow-up of an antiretroviral treatment cohort in South Africa: comparison with rates in the community. PLoS One 7: e34156, 2012.
- 4) del Amo J, Moreno S, Bucher HC, et al. Impact of antiretroviral therapy on tuberculosis incidence among HIV-positive patients in high-income countries. Clin Infect Dis 54: 1364-1372, 2012.
- 5) Lawn SD, Wood R, De Cock KM, et al. Antiretrovirals and isoniazid preventive therapy in the prevention of HIV-associated tuberculosis in settings with limited health-care resources. Lancet Infect Dis 10: 489-498, 2010.
- 6) Corbett EL, Charalambous S, Moloi VM, et al. Human immunodeficiency virus and the prevalence of undiag-

- nosed tuberculosis in African gold miners. *Am J Respir Crit Care Med* 170: 673-679, 2004.
- 7) Behr MA, Warren SA, Salamon H, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* from patients smear-negative for acid-fast bacilli. *Lancet* 353: 444-449, 1999.
  - 8) Small PM, Shafer RW, Hopewell PC, et al. Exogenous reinfection with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with advanced HIV infection. *N Engl J Med*. 328: 1137-1144, 1993.
  - 9) Narayanan S, Swaminathan S, Supply P, et al. Impact of HIV Infection on the Recurrence of Tuberculosis in South India. *J Infect Dis*. 201: 691-703, 2010.
  - 10) Wilson D, Nacheha J, Morroni C, et al. Diagnosing smear-negative tuberculosis using case definitions and treatment response in HIV-infected adults. *Int J Tuberc Lung Dis*. 10: 31-38, 2006.
  - 11) Conde MB, Soares SL, Mello FC, et al. Comparison of sputum induction with fiberoptic bronchoscopy in the diagnosis of tuberculosis: experience at an acquired immune deficiency syndrome reference center in Rio de Janeiro, Brazil. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 2238-2240, 2000.
  - 12) Jones BE, Young SM, Antoniskis D, et al. Relationship of the manifestations of tuberculosis to CD4 cell counts in patients with human immunodeficiency virus infection. *Am Rev Respir Dis* 148: 1292-1297, 1993.
  - 13) 日本結核病学会予防委員会. インターフェロノン $\gamma$ 遊離試験使用指針. 結核 89 : 717-725, 2014
  - 14) DHHS Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents - A Working Group of the Office of AIDS Research Advisory Council (OARAC). Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents (updated January 28, 2016). Available at <https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>
  - 15) Narita M, Ashkin D, Hollender ES, et al: Paradoxical worsening of tuberculosis following antiretroviral therapy in patients with AIDS. *Am J Respir Crit Care Med* 158: 157-161 1998.
  - 16) Lawn SD, Myer L, Bekker LG, et al: Tuberculosis-associated immune reconstitution disease: incidence, risk factors and impact in an antiretroviral treatment service in South Africa. *AIDS* 21: 335-41, 2007.
  - 17) Recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents (updated December 17, 2015). Available at <https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/4/adult-and-adolescent-opi-prevention-and-treatment-guidelines/0>
  - 18) Nahid P, Gonzalez LC, Rudoy I, et al: Treatment outcomes of patients with HIV and tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 175: 1199-1206, 2007.
  - 19) Ellner JJ, Hinman AR, Dooley SW, et al: Tuberculosis symposium : Emerging problems and promise. *J Infect Dis* 1993; 168: 537-551.
  - 20) Meressa D, Hurtado RM, Andrews JR, et al. Achieving high treatment success for multidrug-resistant TB in Africa: initiation and scale-up of MDR TB care in Ethiopia—an observational cohort study. *Thorax*. 2015; 70: 1181-1188.
  - 21) Blanc FX, Sok T, Laureillard D, et al. Earlier versus later start of antiretroviral therapy in HIV-infected adults with tuberculosis. *N Engl J Med*. 2011; 365: 1471-1481.
  - 22) Havlir DV, Kendall MA, Ive P, et al. Timing of antiretroviral therapy for HIV-1 infection and tuberculosis. *N Engl J Med*. 2011; 365: 1482-1491.
  - 23) Abdool Karim SS, Naidoo K, Grobler A, et al. Integration of antiretroviral therapy with tuberculosis treatment. *N Engl J Med*. 2011; 365: 1492-1501.
  - 24) Török ME, Yen NT, Chau TT, et al. Timing of initiation of antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus (HIV)-associated tuberculous meningitis. *Clin Infect Dis*. 2011; 52:1374-1383.

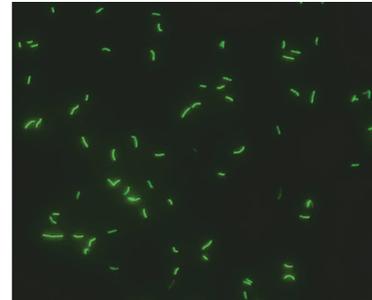
## 結核菌の写真



拡大

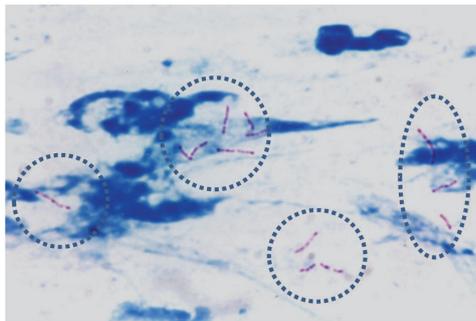


スライド  
ガラスに  
塗抹染色



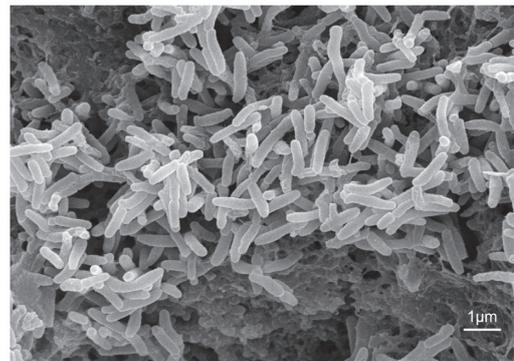
試験管内「小川培地(卵培地)」上に発育した結核菌のコロニー(クリーム色)  
<37°C、4週間培養>  
コロニーの大きさは大小様々で、それぞれ無数の結核菌で形成されるが、  
コロニー数は大きさに関わらず1個(1単位)と算定される。

結核菌の蛍光染色 観察=400倍  
※結核菌はオーラミン蛍光染色にて黄緑色に輝いている。



「チールネルゼン染色」で結核菌は  
赤く(棒状・点線内)、他は青く染め分け  
られる。<材料=喀痰。観察=1000倍>

結核菌の大きさ  
長さ:1~10 μm  
幅:0.2~0.7 μm



電子顕微鏡写真:多数の結核菌が重なりあっている。  
(写真提供:公益財団法人 結核予防会結核研究所)

## レポート

# ポリオウイルス病原体バイオリスク管理に関する WHO 行動計画 (GAP III) と今後の課題

清水 博之

国立感染症研究所ウイルス第二部

### 世界ポリオ根絶計画の進捗とポリオウイルスのバイオリスク管理

2015年の野生株ポリオウイルスによるポリオ確定症例数は、世界全体で74症例が報告されており(2016年2月10日現在)、2014年のポリオ症例数349症例と比較すると大幅に減少した<sup>1)</sup>。3型野生株によるポリオ症例は、2012年11月発症のナイジェリアの症例以降、3年以上報告されておらず、3型野生株の伝播は世界的に終息した可能性が高い。そのため、2013~2015年に報告された野生株症例は、すべて1型ポリオウイルスによる。WHOは、世界ポリオ根絶計画の達成を、きわめて重要かつ喫緊の課題と位置づけ、WHO Polio Eradication and Endgame Strategic Plan 2013-2018(ポリオ根絶最終段階計画2013-2018)を策定し、根絶計画の早期達成を目指している<sup>2)</sup>。ポリオ根絶最終段階計画の主要な目的は、1)ポリオウイルス検出体制強化と迅速なコントロール、2)OPV接種停止に向けた予防接種システムの強化、3)ポリオウイルスのバイオリスク管理の徹底と検証、4)世界ポリオ根絶計画で培った公衆衛生基盤の継承、の4項目にまとめることが出来る。

ポリオ根絶最終段階計画2013-2018では、世界ポリオ根絶を達成するための要件のひとつとして、野生株ポリオウイルス伝播の終息、3価経口生ポリオワクチン(trivalent OPV;tOPV)接種停止とともに、ポリオウイルス取扱い施設から地域社会へのポリオウイルス再侵入のリスクを最小限とするためのポリオウイルスの安全な取扱いと封じ込め活動の徹底を挙げている<sup>2)</sup>。そのためWHOは、2014年12月に、ポリオウイルス病原体管理に関する世界的行動計画(Global Action Plan;GAP)改訂第三版であるWHO Global Action Plan to minimize poliovirus facility-associated risk after type-specific eradication of wild polioviruses and sequential cessation of OPV use(GAPIII)を公開し<sup>3)</sup>、GAPIIIは2015

年5月のWHO世界保健総会で承認された。GAPIIIは、ポリオ根絶最終段階におけるポリオウイルスのバイオリスク管理について、具体的かつ詳細に示した行動計画であり、世界中のポリオウイルス取扱い施設を、診断・研究・ワクチン製造等に関わる必須な機能を遂行するために必要とされる最小限の認証された施設(Essential Poliovirus Facility)に限定し、これらの施設では、GAPIIIに示されたバイオリスク管理標準に準じてポリオウイルスを取扱うことを求めている<sup>3)</sup>。Essential Poliovirus Facility以外の施設では、不必要なポリオウイルス感染性材料の廃棄が必要とされる。

### 2型ポリオウイルスのバイオリスク管理の必要性

世界のほとんどの地域で野生株によるポリオ流行がコントロールされている現状において、ワクチン由来ポリオウイルス(vaccine-derived poliovirus;VDPV)によるポリオ流行は、無視できない公衆衛生上のリスクとなる。また、世界全体のOPV使用国で発生している年間250-500例のワクチン関連麻痺症例の約40%が2型成分による。そのため、ポリオ根絶最終段階計画では、2016年前半に、多くの国々で使われているtOPV接種を世界的に停止し、tOPVから2型成分を除いた2価経口生ポリオワクチン(bivalent OPV;bOPV)を導入するための準備を進めている(図1)<sup>3)</sup>。tOPVの使用停止によりワクチン関連麻痺の発生頻度は低下し、2型VDPV伝播によるポリオ流行のリスクは、将来的には、ほぼゼロになる。2015年10月、WHO Strategic Advisory Group of Experts on immunizationは、2016年4月17日~5月1日の間に世界的なtOPV接種停止/bOPV導入を実施する方針を確認した。bOPV世界的導入後は、2型ワクチン株(Sabin2/OPV2株)についても、GAPIIIに基づくバイオリスク管理の対象となる<sup>4)</sup>。標準株として広く用いられているワクチン株もバイオリスク管理の対象となることか

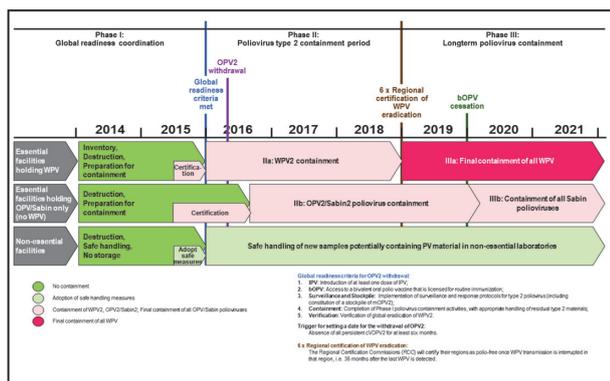


図1. 保有施設のリスクと世界的ポリオワクチン戦略に対応したポリオウイルス病原体管理。

WHO 提供資料 (GAPIII) より引用 ([http://www.polioeradication.org/Portals/0/Document/Resources/PostEradication/GAPIII\\_2014.pdf](http://www.polioeradication.org/Portals/0/Document/Resources/PostEradication/GAPIII_2014.pdf), 2015)

ら、ポリオウイルス検査・研究施設だけでなく、より広範な医学生物学施設へのポリオウイルス病原体廃棄・管理の必要性についての周知が重要となる。

### GAPIIIによるポリオウイルスバイオリスク管理標準

GAPIIIでは、ポリオウイルス感染性材料の保持に関するポリオ根絶後・OPV使用停止後の目標を設定しており、Essential Poliovirus Facilityにおけるリスクを軽減するための、三段階の予防措置に関する国際的標準を示している(図2)<sup>3)</sup>。三段階の予防措置とは、施設への封じ込めによる第一段階予防措置、集団免疫による第二段階予防措置、ならびに施設設置場所およびこれら管理標準の遵守を国家的および国際的に確実化することによる第三段階予防措置をいう。第一段階予防措置は、施設に関連したポリオウイルス漏出のリスクを最小化するものであり、施設管理、封じ込め施設の設計と運営、作業手順、施設人員およびその近親者に対するワクチン接種、ならびにウイルス漏出または曝露の可能性が生じた場合の不測事態対応計画などからなる。集団免疫による第二段階予防措置は、封じ込めを行うEssential Facilityからポリオウイルスが漏出した場合の影響を最小限に抑えるためのものであり、各国の小児定期接種政策および高い集団接種率の維持からなる。第三段階予防措置は、施設の二次廃液またはより多くの廃液を処理する下水閉鎖系を有する地域において、野生株ポリオウイルス伝播能力(基本再生産数;  $R_0$ )が低い地域にそれらの施設を設置することにより、ポリオウイルス伝播のリスクを最小

Table 1: GAPIII containment safeguards at a glance

	Poliovirus type 2 containment period		Final poliovirus containment period	
	All type 2 polioviruses	All OPV/Sabin polioviruses	All wild polioviruses	
<b>1<sup>st</sup> safeguards: Prevent infection &amp; release of contaminated materials</b>				
Operator protection <sup>a</sup>	Yes	Yes	Yes	
Decontamination of materials/equipment	Yes	Yes	Yes	
Dedicated effluent treatment plant	No <sup>b</sup>	No <sup>b</sup>	Yes <sup>c</sup>	
Air/exhaust treatment	No	No	Yes <sup>c</sup>	
<b>2<sup>nd</sup> safeguards: Population immunity in country hosting the facility</b>				
IPV doses	≥ 1	≥ 1	≥ 3	
IPV coverage	= DTP3 coverage <sup>d</sup>	= DTP3 coverage	>90% <sup>e</sup>	
<b>3<sup>rd</sup> safeguards: Environment location</b>				
Siting of facilities in areas with low transmission potential ( $R_0$ ) for wild polioviruses	No	No	Yes	

図2. ポリオウイルス病原体管理における三段階の予防措置 (Safeguard)。

WHO 提供資料 (GAPIII) より引用 ([http://www.polioeradication.org/Portals/0/Document/Resources/PostEradication/GAPIII\\_2014.pdf](http://www.polioeradication.org/Portals/0/Document/Resources/PostEradication/GAPIII_2014.pdf), 2015)

限に抑えるためのものである。第一段階および第二段階の予防措置は、2型ポリオウイルス封じ込め期間において、2型野生株ポリオウイルスの取扱いと保管を行うEssential Facilityに対して義務づけられる。第一段階、第二段階、および第三段階の予防措置は、最終封じ込め段階において、野生株ポリオウイルス感染性材料の取扱いまたは保管を行うEssential Facilityに対して義務づけられる。

GAPIIIに含まれる「Essential Poliovirus Facilityにおけるバイオリスク管理標準」(Annex 2およびAnnex 3)は、第一段階予防措置に関する国際的要件について詳細に示している(図3)。GAPIIIバイオリスク管理標準は、CWA15793「研究施設におけるバイオリスク管理」、WHO「実験室バイオセーフティ指針」第3版(2004)の原則、および約70年に及ぶポリオウイルスに関する各種学術文献を参考としている。GAPIIIバイオリスク管理標準は、国およびWHOによるEssential Poliovirus Facility認証の枠組みとなる。GAPIIIバイオリスク管理標準は、16の要素(element)および下位要素で構成されている(図3)。GAPIIIバイオリスク管理標準では、各施設は自らの業務に係るリスクを熟知しており、研究施設の監督責任を負う国家機関および国際機関が認める各種の方法でリスク管理を行うことができるものと想定している。また、GAPIIIバイオリスク管理標準では、Essential Facilityにおいて、すべてのレベルのスタッフおよび管理者が、ウイルス根絶後・OPV使用停止後における偶発的または悪意のポリオウイルス漏出による影響の甚大さを十

■ ポリオウイルスバイオリスク管理標準について野生株ポリオウイルス (Annex 2) OPV2/Sabin2 (Annex 3) ごとに記載	
- GAP IIから大幅な改訂	
- WHO Endgame Strategic Plan 2013-2018を反映	
- 欧州標準化委員会による「CEN Workshop Agreement (CWA) 15793」(2008)によるバイオリスク管理を導入	
- ポリオウイルスのウイルス学的性状を考慮した管理基準	
<b>Annex 2: Biorisk management standard for essential poliovirus facilities holding wild poliovirus materials</b>	
Introduction.....	36
Poliovirus facility-associated risks.....	37
Management system elements.....	40
Element 1 – Biorisk Management System.....	40
Element 2 – Risk Assessment.....	60
Element 3 – Poliovirus Inventory and Information.....	68
Element 4 – General Safety.....	72
Element 5 – Personnel and Competency.....	73
Element 6 – Good Microbiological Technique.....	77
Element 7 – Clothing and Personal Protective Equipment (PPE).....	79
Element 8 – Human Factors.....	81
Element 9 – Health Care.....	83
Element 10 – Emergency Response and Contingency Planning.....	89
Element 11 – Accident/Incident Investigation.....	95
Element 12 – Facility Physical Requirements.....	98
Element 13 – Equipment and Maintenance.....	106
Element 14 – Decontamination, Disinfection and Sterilization.....	111
Element 15 – Transport Procedures.....	116
Element 16 – Security.....	118

図3. ポリオウイルスバイオリスク管理標準、GAPIIIによるポリオウイルスバイオリスク管理標準 (GAPIII, Annexes 2 and 3) の概要。

分理解し、そのようなリスクを管理するための適切なシステムおよび管理体制を導入していることをいつでも示せることを想定している。

## 我が国におけるポリオウイルス病原体管理体制の整備

わが国では、WHO 西太平洋地域における野生株ポリオウイルス伝播の終息を受け、厚生省（当時）により、2000～2002年にかけて7,865施設を対象とした大規模かつ広範な野生株ポリオウイルス保有施設調査が行われた。2000～2002年の調査では調査票の回収率が低く、また、調査未回答施設に対するフォローアップが行われておらず、全体的な調査精度とその後フォローアップに関する問題点がWHO 西太平洋地域事務局から指摘された。2004～2005年にかけて、野生株ポリオウイルスを保有する可能性のある施設を有する、厚生労働省所管施設および文部科学省所管施設を中心とした調査により、より精度の高い野生株ポリオウイルス保有施設調査が行われた。その後、2006～2007年にかけて、厚生労働科学研究事業により、地方衛生研究所等ポリオウイルスを保管する可能性が高い施設を対象とした追加調査を実施し、ポリオウイルス関連文献サーベイを利用してポリオウイルス研究施設を把握することにより、より精度の高い保有施設調査を実施した。

2000～2008年における調査により得られた情報を、厚生労働省と国立感染症研究所により集計・評価し、野生株ポリオウイルス感染性材料・感染性を有する可能性のある材料を保有する可能性のある82施設をリストアップし、所管省庁の了解のもと各施設に対し確認調査を実施した。その結果、2008

年末時点で計15施設が野生株ポリオウイルス保有施設としてリストアップされた。2008年12月、日本は、野生株ポリオウイルス保有施設リストを含む野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階最終評価報告書 (Final quality assurance report of phase 1 wild poliovirus laboratory containment) を、WHO 西太平洋地域ポリオ根絶認定委員会に提出し、西太平洋地域全体の野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階調査完了が宣言された<sup>5)</sup>。

2007年6月に施行された改正感染症法では、ワクチン株以外のポリオウイルスは四種特定病原体に分類され、法律に基づいた管理が義務づけられている。四種特定病原体の保有については、法律による届出の義務はないが、感染症法に基づいたポリオウイルスの適切な保管・管理について周知を図ることにより、不要なポリオウイルス感染性材料・感染性を有する可能性のある材料の廃棄を促す結果となった<sup>5,6)</sup>。

## 今後の対応

2015年9月の世界ポリオ根絶認定委員会による2型野生株ポリオウイルスの世界的根絶宣言を受け、また、2016年前半のbOPVの世界的に導入に向け、WHOから、不要な2型野生株および2型ワクチン株ポリオウイルスの廃棄が求められている。さらに、国によるEssential Poliovirus Facilityの認定とWHOへの報告、Essential Poliovirus Facilityにおけるポリオウイルス感染性材料のバイオリスク管理の徹底が求められている。そのため、厚生労働省は、平成27年12月11日付「世界的なポリオ根絶に向けた、不必要なポリオウイルスの廃棄について（周知及び協力依頼）」<sup>7)</sup>により、2型ポリオウイルス廃棄に関する理解・協力を求めている。さらに、平成27年12月17日付「ポリオウイルス保管状況の調査について（協力依頼）」<sup>8)</sup>を発出し、ポリオウイルス保有施設の把握と保有状況に関する調査を進めている。

## 参考文献

- 1) The Global Polio Eradication Initiative. Polio cases worldwide (<http://www.polioeradication.org/Dataandmonitoring/Poliothisweek/Poliocasesworldwide.aspx>), 2016
- 2) The Global Polio Eradication Initiative. Polio Eradication and Endgame Strategic Plan 2013-2018 (<http://www.polioeradication.org/ResourceLibrary/Strategyandwork.aspx>), 2013
- 3) WHO. GAPIII. WHO Global Action Plan to minimize

- poliovirus facility-associated risk after type-specific eradication of wild polioviruses and sequential cessation of OPV use, [http://www.polioeradication.org/Portals/0/Document/Resources/PostEradication/GAPIII\\_2014.pdf](http://www.polioeradication.org/Portals/0/Document/Resources/PostEradication/GAPIII_2014.pdf), 2015
- 4) Previsani N et al. World Health Organization Guidelines for Containment of Poliovirus Following Type-Specific Polio Eradication — Worldwide, 2015. MMWR 64 (33) : 913-917, 2015
  - 5) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所ウイルス第二部. 野生株ポリオウイルスの実験室封じ込め. IASR 30. 181-182 : 2009
  - 6) 清水博之. ポリオウイルスの病原体管理, JBSA Newsletter 2 : 11-14, 2012, [http://www.microbiology.co.jp/jbsa/information/2012/newsletter\\_vol2\\_3.pdf](http://www.microbiology.co.jp/jbsa/information/2012/newsletter_vol2_3.pdf)
  - 7) 厚生労働省健康局結核感染症課長. 世界的なポリオ根絶に向けた, 不必要なポリオウイルスの廃棄について (健感発 1211 第 1 号), 平成 27 年 12 月 11 日. [http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/polio/dl/topics\\_20151211.pdf](http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/polio/dl/topics_20151211.pdf)
  - 8) 厚生労働省健康局結核感染症課長. ポリオウイルス保管状況の調査について (健感発 1217 第 1 号), 平成 27 年 12 月 17 日.

## 総会報告

### 第15回日本バイオセーフティ学会総会報告

日時：平成27年9月17日（木）11:00-11:30

場所：戸山サンライズ 大研修室

#### 議事要旨：

1. 第15回総会・学術集会学会長挨拶（篠原克明、国立感染症研究所）
2. 議長選出
3. 2014年度、2015年度活動報告  
倉根理事長より2014-15年度の報告があった。  
2014年度活動報告
  - 1) 第14回学会総会・学術集会 長崎（大沢一貴、長崎大学）
  - 2) 専門家制度検討委員会にて制度について協議を行った。
  - 3) JBSA バイオセーフティガイドライン（案）の作成。
  - 4) 海外学会との連携（IFBA、EBSA および A-PBA）。
  - 5) ニュースレター No.9、10、11 を発行した。
  - 6) 日本学術会議協力学術研究団体の申請を行った。  
2015年度活動報告
    - 1) 第15回学会総会・学術集会 東京（篠原克明、国立感染症研究所）  
（特別シンポジウムを含む3日間開催）
    - 2) 専門家制度検討委員会にて制度の検討を行った。
    - 3) JBSA バイオセーフティガイドライン（案）の作成。第15回総会・学術集会において特別シンポジウム（9月15日）およびセッション（9月16日～17日）が開催された。
    - 4) ニュースレター No.12、13 を発行した。No.14 を発行予定である。
4. 2014年度（1月-12月）会計報告  
会計担当の棚林理事より報告があった。
5. 2014年度会計監査報告  
倉田、吉川監事が会計監査を実施し、適正に運用されていることが報告され承認された。
6. 2014年度会計が承認された。
7. 2016年度活動方針と案件の承認
  - 1) 第16回学会総会・学術集会は加来浩器学会長のもと埼玉で開催されることが承認された。
  - 2) JBSA バイオセーフティ専門家制度について引き続き作業を継続する。
  - 3) JBSA バイオセーフティガイドラインについて、JBSA バイオセーフティガイドライン作成委員会を中心に引き続き検討を行うこと、会員より意見の募集を行うことが説明された。
  - 4) 海外学会；IFBA、EBSA および A-PBA との連携を図る。
  - 5) ニュースレター No.15～17 を発行する。
8. 2016年度予算案  
会計担当の棚林理事より2016年度の予算案が説明され、承認された。
9. 理事選挙  
理事半数改選の選挙が2015年8月に実施され、し2016-2019年度理事が選出されたことが報告された。
10. 日本学術会議協力学術研究団体  
2015年7月付で日本学術会議協力学術研究団体の申請が承認されたことが報告された。
11. その他  
学会の連絡事項を会員にメール（ニュースメール）にて配信を行うことが承認された。  
IFBAの専門家制度について報告があり、JBSAホームページからリンクすることが説明された。

## お知らせ

### 1) 2016-2017年度(1-12月)理事会について

平成28年2月5日に開催された理事会にて、2016-2017年度理事会の理事長に倉田毅先生が就任することになりました。

理事長 倉田 毅 (2016-2019)

理事

庶務担当: 篠原克明 (2014-2017)、北林厚生 (2014-2017)

会計担当: 棚林 清 (2014-2017)、伊木繁雄 (2016-2019)

学術担当: 賀来満夫 (2014-2017)、杉山和良 (2016-2019)

広報担当: 有川二郎 (2016-2019)、森川 茂 (2016-2017)

選挙担当: 倉根一郎 (2014-2017)、吉川泰弘 (2016-2019)

監事

川又 亨 (2016-2017)、木ノ本雅通 (2016-2017)

\* ( ) 内は理事・監事の任期年度を示す。森川茂理事は理事会推薦理事。

### 2) 第16回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会開催について

第16回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会を加来浩器学会長(防衛医学研究センター)のもと2016年11月30日、12月1日(水・木)に大宮ソニックシティで開催いたします。

今後、詳細について学会HP等でお知らせいたします。

### 3) 学会費納入

2016年度(1-12月)の年会費10,000円(正会員)、1,000円(学生会員)および30,000円/一口(賛助

会員)をご納入くださいますようお願いいたします。納入に際しましてはニュースレター第15号(2016年4月)発送封筒に同封いたします「払込取扱票」にてご納入ください。なお、前年度までの未払いがある場合も同様に「払込取扱票」にてご納入くださいますようお願いいたします。

ご不明な点等は学会事務局まで問い合わせてください。

### 4) 学会等開催案内

第16回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会

会期: 2016年11月30日(水)-12月1日(木)

会場: 大宮ソニックシティ

学会長: 加来浩器(防衛医学研究センター)

第19回欧州バイオセーフティ学会(EBSA)年次会議

会期: 2016年4月19-22日

場所: リール、フランス

<http://www.ebsaweb.eu/>

第11回アジア太平洋バイオセーフティ学会(A-PBA)年次会議

会期: 2016年5月31日-6月3日

場所: SIEM REAP、カンボジア

<http://www.a-pba.org>

第59回米国バイオセーフティ学会(ABSA)年次会議

会期: 2016年10月7-12日

場所: Grapevine, テキサス

<http://www.absa.org/>

### 5) ニュースレターに関するご意見、ご要望

ニュースレターに関する会員のご意見、ご要望を是非ともニュースレター編集委員会または学会事務局へお知らせくださいますようお願いいたします。

【発行日】 2016年4月1日  
【発行人】 倉田 毅（日本バイオセーフティ学会 理事長）  
【発行所】 日本バイオセーフティ学会 ニュースレター編集委員会  
杉山 和良（委員長）  
天野 修司、大沢 一貴、小暮 一俊、前田 秋彦、  
森川 茂

日本バイオセーフティ学会事務局  
株式会社 微生物科学機構内  
〒112-0002 東京都文京区小石川 4-13-18  
FAX.03-6231-4035  
E-mail : biseibutsu-com@umin.ac.jp  
<http://www.microbiology.co.jp/jbsa/gakkaiannai03.html>

---

 Contents
 

---

◇Topic: Outbreak of Zika Virus Infections Appeared in the Americas	•••••Masayuki Saijo	24
◇Review: Bornavirus and Biosafety	•••••Akiko Makino, Keizo Tomonaga	26
◇Feature Articles on Tuberculosis		
On the Feature Articles of Tuberculosis	•••••Masamichi Kinomoto	31
Short History and Statistics of Tuberculosis in the World and Japan	•••••Masamichi Kinomoto	32
TB Laboratory Biosafety	•••••Satoshi Mitarai	40
Diagnostic Reagents of Tuberculosis Infection -IGRA and Biosafety-	•••••Nobuyuki Harada	45
Drug-Resistant <i>Mycobacterium tuberculosis</i> -Current Status and Future Scope of R & D	•••••Norio Doi	50
for the Treatment of Drug-Resistant TB-	•••••Norio Doi	
Handling of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in BSL3 Laboratory - Personal Protective Equipment,	•••••Toshio Yamazaki	57
Laboratory Techniques, Disinfection and Sterilization-	•••••Toshio Yamazaki	
Handling and Transportation of <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	•••••Yuko Kazumi	62
-Laws and Regulations for Safe Packing and Storage-	•••••Yuko Kazumi	
Treatment of Tuberculosis -HIV Infection and Tuberculosis-	•••••Hideaki Nagai	69
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> photo	•••••Hideaki Nagai	74
◇Report: WHO Global Action Plan to Minimize Poliovirus Facility-Associated Risk (GAPIII) and	•••••Hiroyuki Shimizu	75
Further Challenges	•••••Hiroyuki Shimizu	
◇Report of JBSA General Meeting		79
◇Announcement and Information		80

