

資料

不審物件中の炭疽菌検査に対する対応状況

堀川和美, 世良暢之, 村上光一, 長野英俊, 高田 智

平成13年9月ニューヨークで発生した同時多発テロ後, 10月米国内で炭疽症患者が相次いで発生した。その原因物質が「白色粉末入り」の郵便物であることが報道された。本邦ではこれに呼応するように「白色粉末」状物質入りの郵便物などが届けられる事件が10月中旬から11月に頻発した。ここでバイオテロとしての炭疽菌検査について, 対応及び検査の概要について報告する

[キーワード:炭疽菌, 不審物件, バイオテロ, 危機管理体制, PCR]

1 はじめに

炭疽は炭疽菌によって起こる疾病であり, 公衆衛生上極めて重要な人畜共通感染症である。1876年コッホによって初めて純培養され, 1881年パスツールによって初めて弱毒生ワクチンが作られた。長い間人獣共通感染症として公衆衛生上重視されてきたが, 近年では欧米や本邦における発生は稀となった。一方, 炭疽菌は「人に一旦感染すると死亡率が他の病原体に比べ極めて高い(治療しない場合95-100%)。自然環境で極めて安定性がある。診断や治療及び除染が困難であること。比較的容易にしかも安価に作成できる。遺伝子操作により毒性を強化したり, 抗生物質に対する耐性を高めたりすることが容易である。」等の特徴をもち, 第二次世界大戦前後からバイオテロの材料として研究開発されるに至った。しかし, 本菌を有事に使用されることはなかった。ところが平成13年10月米国内で, 炭疽症の事例が報告され, テロの可能性が示唆された。

当県でもこのような事例に対応するため県庁で危機管理体制の整備が始められた。当研究所でも炭疽菌の検査体制を整え, 検査を実施したので, その概要について経時的に報告する。

2 炭疽菌の検査体制の確立

炭疽菌の検査体制は家畜衛生やと畜衛生の方面では整備されているが, 今回の炭疽事件以前は人の保健衛生面での検査体制は十分ではなかった。そこで培養検査法及び遺伝子診断法の両面での検査体制を整備することになった(10月10日)。培養検査法については農政部中央家畜保健衛生所・病性鑑定課に協力を得ることになり(10

月12日), 炭疽菌検査手技について研修を受け, さらに早期に入手できない試薬等を借り受けた(10月17日)。10月14日福島県で不審郵便物から「白い粉」が漏出する事件が発生した。10月15日(午後6時頃)国立感染症研究所(感染研)で炭疽菌の有無について検査することとなった。福島県の事例で感染研でPCR法による遺伝子診断を用いているとのことから, 当所でもPCR法について検討を行った。帯広畜産大学獣医学部牧野壯一教授が1999年厚生科学研究事業「炭疽菌の発症機構の解明と迅速検出法の確立」でPCR法の研究を行い, *Letters in Applied Microbiology* (2001, 33, 237 - 240)に検査法が掲載されていた。また, WHOのホームページにもPCR法が掲載されていたので, 両者を検討すべく直ちにPCRに用いるプライマーの合成手配を行った(10月17日)。翌18日, 県内2ヶ所の郵便局で不審郵便物が発見され同日午後5時50分各所轄警察署から検体が搬送されてきた。本検査は粉末状の炭疽菌である可能性があるため, 他実験室と区別された微生物高度安全実験室(P3)の安全キャビネットの中で検査を実施した。所内にあった化学用の防護服やマスクを調達し, 検査にあたった。準備はギリギリのところまで間に合った。その後, 次々と同様な事例が続出し, 検査を実施した(表1)。検査法は, 最初の検査では遺伝子診断用のプライマーが間に合わず培養法のみで行ったが, 2回目の検査以降はPCR法を併用して実施した。

10月18日付けの厚生労働省大臣官房 厚生科学課長, 健康局総務課長, 結核感染症課長名で「炭疽菌等の汚染のおそれのある郵便物等の取り扱いについて」が通知された。ここで不審郵便物に関する対応や検査法が提示さ

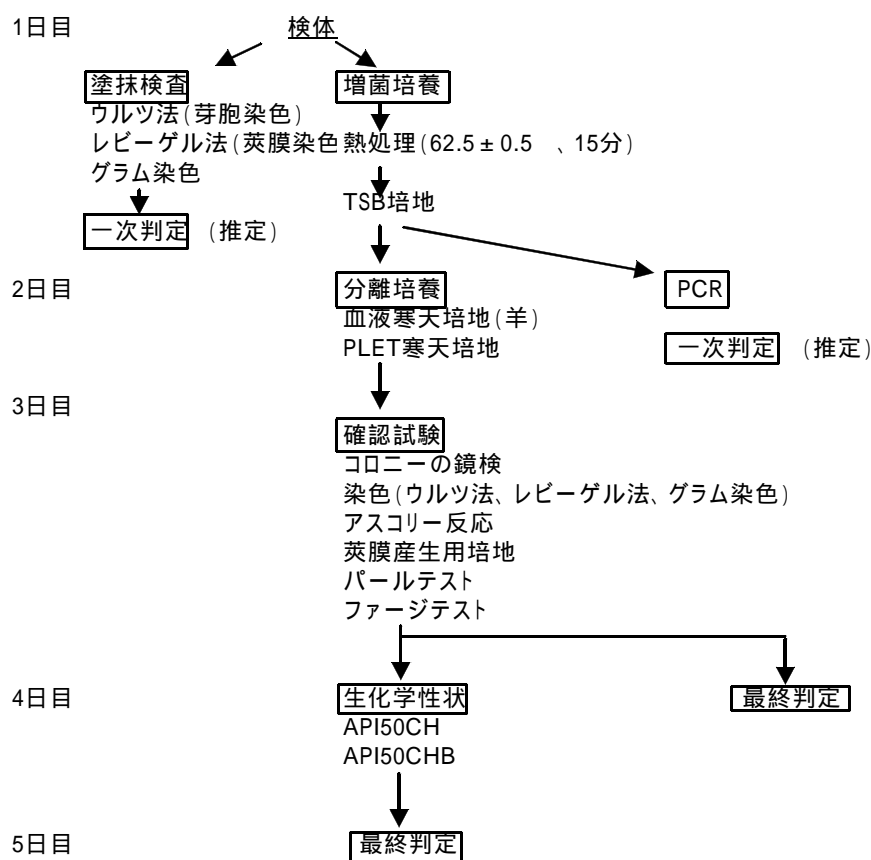
れた。検査には PCR 法が導入されていた（同時に10月25日に研修をする旨も発表された）。

10月25日（木）感染研で各都道府県市区衛生研究所，検疫所，防衛庁，主な民間検査機関など約120の機関が一堂に会して，「炭疽菌の検査法に関する講習会」が行われた。講習会は約3時間にわたり，定形的な検査法の説明，炭疽菌の取り扱い上の注意及び PCR 法の説明があり，PCR 合成プライマー（毒素及び莢膜遺伝子増幅用）及びコントロール DNA（陽性及び陰性コントロール）が配布された。実技が無い十分な質疑応答時間がとられ，質問の中から得るものが多かった。しかし，検査はいずれの場合でも同じであるが，研修を受けたから検査ができるというものではない。この研修以前に炭疽

菌について調査し，自分たちで器具・試薬の調達を行って始めて研修が生きることを実感した。

3 炭疽菌の検査法

当所で現在実施している炭疽菌の検査法は，図1に示すとおりである。検査結果は，第1日目から最終結果が判明するまで逐次県庁企画課に報告した。検査の回数を重ねる度に検査方法の検討を加え，環境材料に適応した検査方法を検討した。PCR は，検査結果の信頼性と効率の点から増菌培養液から行うこととした。直接材料を PCR に適用しても阻害物質により陰性の評価ができないためである。これまでの他細菌の検査の経験から培養法は，検査材料などの点から時に遺伝子診断より感度が



炭疽菌の細菌学的な特徴

- 1.形態：グラム陽性桿菌、竹節様に連鎖する。莢膜を有する。菌体中央に芽胞を形成する。
- 2.培養：周辺波状、粗面、縮毛状のコロニー（菌集落）を形成する。溶血性は無い。
ブイヨン培養では長糸状の沈殿を生じ、管壁に輪状の菌膜を形成する。
- 3.パールテスト：ペニシリンに感受性であり、低濃度（0.05単位）のペニシリンを含む寒天上では円形のプロトプラスト（真珠状）として確認される。
- 4.ファージテスト：ファージで炭疽菌は特異的に溶菌する。
- 5.アスコリー反応：炭疽菌の莢膜抗原を血清学的に検出する沈殿素血清反応陽性である。

図1 炭疽菌の検査方法手順

優れているときがあり、結果を急ぐあまりに偽陰性の結果を招かないよう培養法は公定法どおりにやることになった。

第1日目：材料を緩衝生理食塩水で乳剤にし、グラム染色法、レビーゲル法及びウルツ法で炭疽菌の有無を判定した。しかし、ごく一部しか見ることができないので損傷した菌を回復させて増やす増菌培養を行った。このとき増菌培地に接種する前に、乳剤に含まれる雑菌を死滅させるため62.5℃で15分間加熱した。

第2日目：増菌培養液中の炭疽菌の有無を調べるため培養液をPCRにかけた。一方、この増菌培養液を羊血液寒天培地及びPLET寒天培地に塗抹した。

第3日目：分離培地上に炭疽菌の特徴を持つ菌が生育しているかどうかを判定した。疑わしいコロニーがあれば釣菌し純培養するとともに、コロニー塗抹標本の染色、ファージテスト、パールテスト、アスコリー反応などの性状試験を行った。

第4日目：結果が疑わしい場合は、さらに生化学性状試験を行った。

第5日目：最終判定

以上が検査の概要である。実施した14事例中第4日目まで検査を継続した事例は1例のみであった。

4 検査結果の概要

当所に搬入された不審物件の概要は表1の通りである。14事例の検体からは、いずれも炭疽菌は検出されなかった。また、以下に事例の詳細について示す。

事例1, 2：10月18日（木）16:00、県庁企画課から炭疽菌の検査依頼第一報が入り、検査準備をした。17:50、検査材料が研究所に搬入された。課全員でP3に行き、2名が入室し他は外で待機した。まず光学顕微鏡をP3に入れ、その他細菌検査に必要な器具・試薬を最低限入れる（18:35）。P3に入れたものは、オートクレーブで滅菌して出さねばならない。20:20、2検体の直接塗抹標本の顕微鏡での観察及び培養が終了した。すべての検査は10月20日（土）に終了した。

事例3：10月24日（水）、事例4, 5, 6：10月25日（木）、事例7：10月26日（金）、事例8：10月27日（土）、米国の炭疽菌感染者の報道がなされると連動し、毎日次々と検体が運び込まれた。事例が重なるとP3での検体処理が混雑するようになった。課員全員で手分けして検査にあたったが、PCRの検査時間が予想外に時間をとることが分かった。処理から結果が出るまでにどんなに頑張っても5時間要した。5事例の検査が10月29日に一段落した。ところがP3の2台の安全キャビネットの中は検査した後の培地や器具・器材が山積となっていた。ウイル

ス用に設計されたP3のオートクレーブは小さく、2日ばかりで滅菌処理した。かたづけが終了した翌日11月2日から3日にかけて3事例発生した。検査材料は最初の頃は粉状のものが封書の中に入っている気配があり不審に思うというパターンであったが、中盤からは米国での「白色粉末状物質」との報道から、公共交通機関や公共施設で「白色粉末状物質」に見えるものが発見され搬入されるケースが殆どとなった。

表1 当所に搬入された検査対象物件

	搬入年月日	時間	所轄署	検査対象物件
1	H13.10.18	17:50	門司	A*
2	10.18	17:50	小倉北	A
3	10.24	17:35	大牟田	A
4	10.25	12:46	筑紫野	A
5	10.25	14:15	久留米	A
6	10.25	17:20	筑紫野	B**
7	10.26	12:15	大牟田	B
8	10.27	11:02	後藤寺	A
9	11.2	16:00	筑紫野	A
10	11.2	17:50	小郡	A
11	11.3	9:50	柳川	B
12	11.6	9:18	筑紫野	B
13	11.26	11:04	筑紫野	B
14	H14.1.16	11:05	筑紫野	A

*：郵便局又は個人宅等で発見された不審郵便物等

**：公共交通機関等で発見された白色粉末状物件等

5 まとめ

新興・再興感染症対策と一言でいわれているが、平素の情報収集と検査体制の整備により迅速な対応が図られる。今回の事例からも常に雑誌や学会等での情報収集さらに培養法や遺伝子診断技術の習得が必要であると考えられる。学問の進歩とともに検査法も進化している。特に遺伝子工学の進歩は目覚ましいものがあり、PCR法では全行程約5時間を要するがリアルタイムPCRを用いると2時間で確認作業まで完了する。検査体制強化のために早急な本機器の導入が望まれる。また、常に世界の感染症に注目し、将来を予測した研究を行っていかねばならない。

6 参考資料

1. 独立行政法人動物衛生研究所ホームページ
2. 国立衛生研究所ホームページ
3. 厚生労働省ホームページ
4. 戸田新細菌学第30版：1994、森良一、天児和暢 編、南山堂。
5. 人と動物の共通伝染病：1998、高島郁夫 監修、酪農総合研究所。