

## 5. 細菌第二部

### 部長 柴山恵吾

#### 概要

細菌第二部では、呼吸器系感染症、毒素産生細菌感染症、日和見感染症及び薬剤耐性菌に起因する感染症に関し、細菌学的な基礎、応用研究、レファレンス業務、及び関連する生物学的製剤、抗生物質製剤の品質管理業務、研究を行っている。その他、厚生労働省医政局指導課が実施する厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS 事業）の実務を担当している。研究は、厚生労働行政上特に調査研究が必要なものを対象とし、感染症コントロールに寄与することを目標としている。細菌第二部は、歴史的経緯から特に品質管理業務を多く担当している。研究業務、レファレンス業務、品質管理業務をお互いに効率的に連携させつつ、厚生労働行政へ科学的支援を行い、国民の保健医療の向上に貢献することを目指している。

H23 年度は呼吸器系感染症で特記すべきこととして、マイコプラズマ肺炎の大流行が挙げられる。今回流行したマイコプラズマは、マクロライド耐性菌がほとんどを占めていた。この状況を踏まえ、細菌第二部では結核感染症課と連絡を取りながら全国の医療機関に協力を得て緊急実態調査を行った。病原体と臨床情報を収集し、部内では室を超えて連携体制を組み、また情報センター等内外の専門家の協力を得つつ解析を行った。また他に特記すべきものとして近年、中高生や大学生等の若年層で百日咳が流行し問題となっているが、国内の流行地域での調査の結果、百日咳菌ではなくその類縁菌 *Bordetella holmesii* が起炎菌である症例があり、またその菌が実際に人-人感染を起していることを初めて明らかにした。

品質管理業務では、SLP の導入準備が本格的に始まったことが特記すべきこととして挙げられる。担当している製剤が非常に多く、極めて大変な労力を伴う作業だが、部員が一丸となって準備を進めた。なお、品質管理業務については、所内各部で業務の分担量を平均化していくことが決まったことを受け、精製ツベルクリン製剤をハンセン病研究センター感染制御部へ、はぶ抗毒素製剤、まむし抗毒素製剤を免疫部に移管する作業を開始した。また部内においても、検定業務が多い室に他室の職員が支援に回るなど、室を超えた協力体制を組んだ。このよ

うに部内の品質管理業務について、適正分担化に向けた作業を進めた。

細菌第二部は、ジフテリア、ボツリヌス、百日咳のレファレンスセンターとなっている。またこれら以外の病原体についても行政検査の依頼を多く受けている。行政検査については PCR コンタミによるミスを防ぐために、部内で体制作りを進めている。各地方衛生研究所との連携強化も図った。ボツリヌスの検査に関しては、国立医薬品食品衛生研究所と連携し、食材と患者検体の検査が円滑に実施されるような体制を組んだ。

JANIS 事業は、参加医療機関数が増加して H23 年に合計 1000 になった。H24 年 3 月 16 日に、柴山恵吾が JANIS 運営委員会会長に就任した。運営委員会の委員も大幅に入れ替わり、新体制が発足した。厚生労働省医政局指導課の所管の下、事業の運営方針を決定する主体を、それまで研究班だったのを運営委員会に移し、運営方針の決定プロセスも明確化して、事業内容の改善、推進を行っていくこととした。また JANIS 事業を参加医療機関に積極的に活用して頂けるように、参加医療機関、地方衛生研究所、自治体に積極的に働きかけを行った。

人事では、H23 年 4 月 1 日に柴山恵吾が第 4 室長から部長に昇格した。H23 年 6 月 1 日に加藤はる室長が第 2 室から第 3 室に異動した。H23 年 7 月 1 日に第 4 室に林原絵美子研究員が採用された。H24 年 1 月 1 日に第 3 室に妹尾充敏研究員が採用された。H23 年 6 月 30 日に第 2 室の木村孝司主任研究官が名古屋大学に転出した。H24 年 3 月 31 日に第 1 室の近田俊文室長が定年退官した。

#### 業績

##### 調査・研究

##### I. 薬剤耐性菌に関する研究

1. 薬剤耐性菌及び抗菌薬関連下痢症等に関する菌株・検体等の解析依頼の概要

医療機関から依頼を受けた菌株・検体について、薬剤耐性菌の耐性遺伝子検査、毒素遺伝子検査、菌種同定及び菌株タイピング解析、*Clostridium difficile* 分離同定及び毒素検出等の解析を実施し、それらの結果を依頼施設に報告した。依頼菌株の菌種については、

*Clostridium difficile* (165 株)、*Pseudomonas* spp. (57 株)、*Enterococcus* spp. (32 株)、大腸菌 (29 株)、*Klebsiella* spp. (20 株)、*Staphylococcus* spp. (9 株)、*Enterobacter* spp. (5 株)、*Streptococcus* spp. 4 株、*Citrobacter* spp. (4 株)、*Serratia marcescens* (3 株)、*Morganella morganii*、*Pantoea* sp.、*Proteus*、*Leuconostoc* sp. 各 1 株であった。なお、菌株は感染研細菌第二部の管理番号 (MRY 番号) を付与して保存した。

[松井真理、鈴木里和、和知野純一、妹尾充敏、加藤はる、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、山岸拓也、網中真由美、近田俊文、柴山恵吾]

#### 2. 新型メタロ-β-ラクタマーゼ SMB-1 の X 線結晶構造解析

高純度に精製した SMB-1 酵素を用いて、結晶作製を行った。作製した結晶を用いて、放射光科学研究施設にて回折データの回収を行った。その結果、1.6 Å の分解能でデータを回収することができた。回収したデータを用い、分子置換法にて位相を決定した。構造の精密化を行い、最終的にモデル構築まで行った。SMB-1 の 3 次元構造は、これまでに報告されたメタロ-β-ラクタマーゼと全体像は似ているものの、個々の loop 部分が大きく異なることがあきらかとなった。[和知野純一]

#### 3. 日本国内の医療機関で分離された *Acinetobacter baumannii* のタイピングと流行株の簡易検出法構築に向けた検討

2000 年から 2010 年に日本国内の医療機関で分離されたアシネトバクター属 77 株のうち、遺伝子学的手法で *A. baumannii* と菌種同定された 33 株の MLST を Bartual らの手法で行った。15 株が世界流行株とされる clonal complex 92 に属し、他 18 株のうち 17 株が新規 Sequence type であった。*bla<sub>OXA-51-like</sub>* 遺伝子は、*A. baumannii* のみで検出され、他の種では検出されなかった。その塩基配列は MLST と高い相関が認められた。本研究で分類した流行株と非流行株を用いて、流行株を検出できる簡易手法を引き続き検討中である。[松井真理、鈴木里和、荒川宜親、柴山恵吾]

#### 4. IMP-6 型メタロ β ラクタマーゼ産生大腸菌の解析

2010 年に実施した「我が国における多剤耐性菌の実態調査」において収集された菌株の解析により、わが国において IMP-6 と CTX-M-2 を保有する incN タイプのプラスミドが腸内細菌科の細菌に広まっていることを明らかにした。特に、国内の複数の都道府県より分離された同

プラスミドを保有している大腸菌の多くが世界流行株である ST131 であることも明らかとなった。[鈴木里和、松井真理、和知野純一、荒川宜親、柴山恵吾]

## II. 鼻疽菌・類鼻疽菌に関する研究

### 1. 迅速検出系の検討

#### (1) 鼻疽菌の LAMP 法の検討

これまでに鼻疽菌 *Burkholderia mallei* の LAMP 法は報告されていない。また、迅速で簡便な核酸検出法もこれまでに報告がない。このため、鼻疽菌に特異的な遺伝子を標的として LAMP 法プライマー群の設計を行った。設計した 3 組のプライマー群のうち 1 組は感度、特異度ともに使用可能と考えられた。現在、鼻疽菌の検出系としての最適な条件検討を行っている。[堀野敦子]

#### (2) 類鼻疽菌の LAMP 法の検討

類鼻疽流行地域にあるタイ・コンケン大学にて類鼻疽菌の LAMP 法について条件の再検討を行った。類鼻疽疑い患者検体からのゲノム DNA の抽出法を変更することで検出感度を向上させることができた。[堀野敦子、KKU: Ganjana Lertmengkolchai]

## III. インフルエンザ菌ならびに細菌性髄膜炎起因菌に関する研究

### 1. 小児における侵襲性感染症由来 *Haemophilus influenzae* の疫学的解析

*Haemophilus influenzae* 莢膜 b 型菌 (Hib) ワクチン導入後の、*H. influenzae* 髄膜炎等の疫学調査の一環として、全国 9 県において小児侵襲性感染症例から分離された *H. influenzae* 100 株について、莢膜型、薬剤感受性試験等の解析を行った。肺炎等からの Non-typable *Haemophilus influenzae* (NTHi) が分離される例が複数認められた。[佐々木裕子、木村幸司、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、増田まり子、見理 剛、加藤はる、近田俊文、柴山恵吾]

### 2. 細菌性髄膜炎疑い症例の髄液における細菌遺伝子の検出

細菌性髄膜炎が疑われた症例の髄液中の細菌遺伝子の検出法の改良を実施した。*Haemophilus influenzae*、*Streptococcus pneumoniae*、*Neisseria meningitidis*、*Streptococcus agalactiae*、*Mycoplasma pneumoniae* ならびに *Mycoplasma hominis* 等についての Real-time PCR 法を含めた遺伝子検出法を準備し、実際の症例における解析を行った。[佐々木裕子、柴山恵吾]

#### IV. 抗菌薬関連下痢症に関する研究

1. *Clostridium difficile* 臨床分離株における疫学的調査
  - (1) 日本の医療機関における endemic 菌株の収集解析を開始した。
  - (2) *Clostridium difficile* 感染症重症例やアウトブレイク事例における分離株を解析した。
  - (3) ウマ由来株における解析を行い、ヒト由来株と比較検討した。
2. *Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査法に関する検討
 

ベトナムにおいて実行可能な *Clostridium difficile* 細菌学的検査システムの構築を目的に、ベトナムの共同研究者と準備を開始した。[加藤はる、妹尾充敏、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江]

#### V. マイコプラズマに関する研究

1. 肺炎マイコプラズマ 2a 型菌 (*M. pneumoniae* variant 2a) のゲノム解析
 

1998 年に日本で分離され、新型菌であることを報告した *M. pneumoniae* の 2a 型菌、309 株の全ゲノム配列を次世代型 DNA シークエンサーを使用して解読した。解読結果を DDBJ/EMBL/GenBank データベースに登録した (Accession No. AP012303)。 [見理 剛、堀野敦子、松井真理、佐々木裕子、鈴木里和、柴山恵吾]
2. マイコプラズマ比較ゲノム解析
 

マイコプラズマにおける新規病原因子の探索等を目指して、マイコプラズマならびに近縁種における比較ゲノム解析を行った。種の比較と共に、株間での病原因子の動態を理解するため *Mycoplasma penetrans* ゲノムのドラフト配列を得た。[佐々木裕子、松井真理、見理 剛、鈴木里和、柴山恵吾]
3. *Mycoplasma pneumoniae* の研究
  - (1) マイコプラズマ肺炎と *M. pneumoniae* pl 遺伝子型との関連性について
 

これまでに地方衛生研究所と共同で *M. pneumoniae* の pl 遺伝子型に基づく型別を行ってきた。我々のこれまでの研究でマイコプラズマ肺炎と遺伝子型の間には何らかの関連があるのではないかと、という可能性が示唆されている。2011 年には肺炎マイコプラズマの大きな流行があり、流行前から流行中に収集された *M. pneumoniae* の pl

遺伝子型を解析した。その結果、流行年には 1 型が検出される割合のみが増加していることが示された。[堀野敦子、見理 剛、谷口清州、藤戸亜紀 (高知衛研)、勝川千尋 (大阪府衛研)、松本純子 (愛媛衛研)]

- (2) マイコプラズマ肺炎患者の疫学的及び臨床的特徴の分析、病原体の薬剤耐性の解析に関する研究
 

流行期の肺炎マイコプラズマ疑い入院患者由来の咽頭もしくは鼻咽頭スワブ検体由来 *M. pneumoniae* の菌株解析を行った。検体採取期間は 2011 年 2 月。陽性検体は LAMP 法、培養法ともに 27 株、検出率は 57% であった。またマクロライド耐性の原因となる 23S rRNA 遺伝子の点変異が確認された株は 22 件で、耐性率は 81.5% であった。今回の臨床分離株について薬剤感受性試験を行った結果、既報から逸脱した MIC 値は見られなかった。[堀野敦子、見理 剛、鈴木里和、谷口清州、柴山恵吾、本研究協力医療機関]

#### 4. マイコプラズマの臨床疫学研究

2011 年のマイコプラズマの大流行を受け、流行期間中にマイコプラズマ肺炎と診断された入院患者の症例情報を収集し、患者の臨床経過や合併症の有無、投与された抗菌薬による治療予後の比較を行った。14 都道府県 47 医療機関 (小児科 38 施設、内科・呼吸器科 9 施設) から診断基準を満たした *Mycoplasma pneumoniae* 感染症患者 763 例の臨床情報が収集された。入院例の臨床像は過去の報告と明らかな違いは無く、重症例や死亡例の増加は認めなかった。一方で、マクロライド系抗菌薬の効果はミノサイクリンに比較して低下しており、マクロライド耐性 *M. pneumoniae* の蔓延が臨床的な予後に影響している事が示唆された。[鈴木里和、堀野敦子、見理剛、佐々木裕子、柴山恵吾]

#### VI. ボツリヌス菌、ボツリヌス毒素に関する研究

##### 1. ボツリヌストキソイドの臨床試験

ボツリヌス毒素は、もっとも強力な致死活性をもつ生物毒素でテロへの使用の危険を有するものである。その防疫は、医療関係者や警察、自衛隊など直接現場で対応を行う関係者にとって必要である。ところが、現代までそのワクチン製剤が作成されていない。そこで有事に備えての日本国内での多価ボツリヌストキソイドワクチン試験製造品について、その臨床試験を計画した。第一年目は、9 人のボツリヌス毒素関連の製造にかかわるヒトに対して 3 回の免疫を行った。その血清抗体価を ELISA 法にて測定したところ、いずれかの型に対する免疫が成

立した。[山本明彦、銀永明弘、原川哲弘（化血研）、小崎俊司、幸田知子（大阪府立大学）、杉本 央（大阪大学）政策創薬研究事業]

## VII. ジフテリアおよび類似疾患に関する研究

### 1. 犬における *Corynebacterium ulcerans* の検討

2001 年以降に国内の動物から分離された *Corynebacterium ulcerans* の細菌学および分子生物学的性状解析結果は、ヒトおよび動物から分離された *C. ulcerans* は、*C. diphtheriae* が産生する毒素とは異なるが、本菌に感染した動物由来菌とヒト患者由来菌は遺伝学的に類似していることを確認した。また、583 頭の犬の調査結果、大阪府犬管理指導所の 7.5% にあたる 44 頭の犬から毒素産生性 *C. ulcerans* が分離された。[小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、勝川千尋（大阪府公衛研）、幸田知子、小崎俊司（大阪府立大学）：厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業]

### 2. *Corynebacterium ulcerans* 国内初分離株のゲノム解析

2001 年に千葉県でジフテリア様症状を呈する患者から分離された *Corynebacterium ulcerans* 0102 株の全ゲノム塩基配列を決定した。ゲノムは *Corynebacterium pseudotuberculosis* と高い相同性を示したが、ジフテリア菌 *Corynebacterium diphtheriae* とはより低い相同性を示した。0102 株ゲノム中には 3 つのプロファージ領域が見出され、そのうち 1 つにはジフテリア毒素遺伝子がコードされていた。*C. diphtheriae* の場合、プロファージの誘発・感染により毒素遺伝子が菌株間に伝播すると考えられており、*C. ulcerans* においてもファージが同様の役割を担うと考えられるが、*C. ulcerans* のプロファージには、毒素遺伝子を除いて *C. diphtheriae* のファージとの間に相同性がほとんど認められず、起源が異なると考えられた [関塚剛\*、山本明彦、小宮貴子、見理剛、竹内史比古\*、柴山恵吾、高橋元秀、黒田誠\*、岩城正昭（\*病原体ゲノム解析研究センター）]

## VIII. 結核等抗酸菌に関する研究

### 1. 結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素に関する研究

#### (1) 本酵素を標的とする新規抗結核薬の開発

本酵素の機能構造相関解析の結果に基づいてドッキングシミュレーション解析を行い、複数の新規抗結核薬候補化合物を見いだした。さらに、これらの候補化合物が本酵素に対して阻害活性を示すことを明らかにした。[森茂太郎、柴山恵吾]

#### (2) 本酵素の変異体作製とその機能構造相関解析

本酵素の基質結合部位に存在するアミノ酸残基を置換、または削除した変異体を作製し、その機能と構造を解析した。その結果、本酵素に特有のループ構造が基質特異性に関与していることを明らかにした。[森茂太郎、和知野純一、柴山恵吾]

### 2. 抗結核薬ピラジナミドの作用機序に関する研究

ピラジナミドの活性型であるピラジン酸が酸性条件下において結核菌由来ニコチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼの酵素活性を阻害することを明らかにした。[森茂太郎、柴山恵吾]

## IX. ヘリコバクター属菌に関する研究

### 1. *Helicobacter cinaedi* の分子疫学的解析と薬剤感受性に関する研究

*H. cinaedi* は院内感染が疑われる事例が報告されているが、これまでに分子疫学的解析は行われていない。そこで、*H. cinaedi* の Multilocus Sequence Typing (MLST) 法を開発した。また、薬剤感受性を調査した結果、すべてがクラリスロマイシン耐性およびシプロフロキサシン耐性であり、その耐性はそれぞれ 23S rRNA および GyrA 変異によるものであることを明らかにした。[林原絵美子、柴山恵吾]

### 2. *Helicobacter pylori* の $\gamma$ -glutamyl transpeptidase (GGT) と Asparaginase (AnsB) に関する研究

$\Delta$ GGT 株および  $\Delta$ AnsB 株を用いた AGS 細胞の *in vitro* 感染実験を行い、GGT によるグルタミンの枯渇が *H. pylori* 感染による AGS の IL-8 産生誘導に寄与していることを明らかにした。[林原絵美子、柴山恵吾]

## X. 百日咳菌および百日咳類縁菌に関する研究

### 1. 百日咳菌

#### (1) 新規百日咳血清診断法の開発に関する研究

百日咳患者の新規血清診断法として、IgM-capture ELISA 測定系の開発を行った。測定抗原には百日咳菌に特異的な protein X (組換え protein X-maltose binding protein) を使用し、発色系には高感度なビオチン-アビジンシステムを用いた。百日咳遺伝子検査により確定された患者血清 (n = 21) と健常成人血清 (n = 20) の抗 protein X IgM 抗体価を測定したところ、両者の抗体価分布に有意差を認めた (p < 0.01)。ROC 解析により、本法の感度は 86%、特異度 89% と評価され、本測定法は感染早期の血清診断に有用と考えられた。[大塚菜緒、中村

幸嗣、新庄正宜（慶應大学）、権平文夫（デンカ生研）、荒川宜親、柴山恵吾、蒲地一成]

(2) 大学における百日咳流行の予防・制御に関する研究

昨年度に引き続き、医学部生を対象とする百日咳保菌調査を実施した。第3回調査は百日咳の流行シーズンである5月に実施し、2大学の医学部生100名について遺伝子検査を行った。その結果、第1回、第2回調査と同様に百日咳菌の保菌者は0名であった。これまでの調査結果から、平常時に医学部生が百日咳保菌者となる可能性は低く、大学等で発生する集団感染は百日咳菌の施設侵入により引き起こされることが指摘された。なお、第3回調査では百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* の遺伝子検査を実施し、1名から同菌遺伝子を検出した。[蒲地一成、鯉坂裕美、大塚菜緒、竹内啓晃（高知大）、八木哲也（名古屋大）]

(3) 遺伝子検査を用いた百日咳サーベイランスシステムの構築と評価に関する研究

百日咳疑い患者802名について百日咳LAMP検査を実施し、97名（12.1%）から百日咳菌遺伝子を検出した（2009年9月～2011年11月）。検査陽性例は2011年7～10月に多く認められ、その陽性率は17.9～25.0%であった。患者検体からの菌タイピングではST1（56.4%）が最も多く、次いでST2（29.1%）、ST4（10.9%）、ST7（3.6%）の順であった。高知県では百日咳疑い患者の5.4%（5/92）にマイコプラズマ遺伝子が検出され、遺伝子検査に基づくサーベイランスの必要性が指摘された。[蒲地一成、鯉坂裕美、大塚菜緒、八柳潤（秋田衛研）、奥野ルミ（都健安研セ）、高橋智恵子（神奈川衛研）、勝川千尋（大阪公衛研）、松本純子（愛媛衛研）、藤戸亜紀（高知衛研）]

2. 百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii*

(1) *B. holmesii* の水平伝播に関する研究

2010-2011年にA県で中学生を中心とした百日咳地域流行が発生した。IS481または *recA* を標的としたreal-time PCRによる病原体検査を実施した結果、百日咳様症状を呈する患者の中に *B. holmesii* 感染者が含まれることが判明した。76名の百日咳疑い患者のうち、29名が百日咳菌感染者、6名が *B. holmesii* 感染者であった。6名の *B. holmesii* 感染者のうち5名に疫学的な関連性が見いだされ、世界で初めて *B. holmesii* のヒトヒト感染の可能性が指摘された。[神谷元、大塚菜緒、安藤由香、大平文人、吉野修司、河野喜美子（宮崎衛研）、

高橋博和（高橋医院）、西田敏秀、日高良雄（延岡保健所）、鯉坂裕美、柴山恵吾、蒲地一成、砂川富正、谷口清州、岡部信彦]

(2) *B. holmesii* に特異的な遺伝子検出系の開発

わが国では *B. holmesii* 感染症は稀であると認識されていたため、十分な検査体制が整っていなかった。近年、わが国を含め世界的に *B. holmesii* 感染症例が報告されており、簡便かつ高感度な検査方法として *recA* 遺伝子を標的としたLAMP法を構築した。*Bordetella* 属5菌種16株を用いて本検出系の特異性を評価した結果、*B. holmesii* のみが増幅され、その検出感度は50 fg DNA/tubeを示した。さらに、百日咳疑い患者の臨床検体を用いた評価では、*B. holmesii* 患者のみが陽性と判定された。[大塚菜緒、吉野修司、河野喜美子（宮崎衛研）、鯉坂裕美、柴山恵吾、蒲地一成]

XI. 破傷風菌に関する研究

1. 日本国内の土壌での破傷風菌分離

破傷風は、*Clostridium tetani* が産生する神経毒素により、強直性痙攣をひき起こす疾患である。その芽胞が土壌中に広く常在し、創傷部から体内に侵入・感染が起こる。破傷風菌の土壌中の国内分布については、最近の全国的な調査は無い。そこで、昨年より32都道府県から480検体の土壌を採取し、昨年220検体から、本年度は土壌42検体について菌分離を行い、本年は7カ所から破傷風菌が分離された。[山本明彦、岩城正昭、見理剛、小宮貴子]

2. 破傷風患者からの破傷風菌臨床分離

臨床的症状から診断される破傷風が、病原体診断されることは稀である。福島県立医科大学病院検査室にて、患者傷部より破傷風菌の分離に成功した。感染研にて同定を行い確認した。[大橋一孝、須釜久美子、小黒祐子（福島県）、山本明彦]

3. 破傷風トキソイドの免疫原性に関する研究

(1) 人工エラスチン蛋白による破傷風トキソイドの免疫原性に対する研究

ア. 人工エラスチン蛋白とアルミニウムアジュバントによる破傷風トキソイドの免疫原性に対する影響の比較  
エラスチン結合破傷風トキソイドとアルミニウムアジュバントを結合した沈降破傷風トキソイドとともにトキソイド抗原として0.4Lf/mouseをマウスに免疫し、4週後の血中抗体価を比較した。その結果、沈降破傷風トキソ

イドの平均抗体価が 2.78 U/mL であったのに対して、エラスチン結合破傷風トキソイドではマウス 10 匹中 9 匹で抗体価が検出されなかった。この結果より、実験に使用されたエラスチンには、破傷風トキソイドの免疫原性をアルミニウムアジュバント程の増強する効果はない可能性がある。[福田 靖]

イ. 人工エラスチン蛋白による破傷風トキソイドと破傷風トキソイドとの比較

エラスチン結合破傷風トキソイドとアジュバントを含まない破傷風トキソイドをマウスに免疫(トキソイド抗原量: 4 Lf/mouse)し、4 週後の血中抗体価を比較した。その結果、破傷風トキソイドの平均抗体価が 0.014 U/mL であったのに対して、エラスチン結合破傷風トキソイドでは 0.018 U/mL であった。この結果より、実験に使用されたエラスチンには、破傷風トキソイドの免疫原性に影響を与えない可能性がある。[福田 靖]

## XII. マムシ毒素に関する研究

### 1. マムシ抗毒素の市販後調査

マムシ抗毒素の市販後調査は、ほとんど行われていた。そこで咬傷の対処に臨床の現場でマムシ抗毒素がどのように使用されているのかを調査するために、全国 219 施設の救命救急センターについてアンケート調査を実施した。その結果、マムシ抗毒素は重症のマムシ咬傷への対応薬として用いられているが、セファランチンがよく用いられていることが明らかとなった。[一二三 亨、小井戸雄一(国立病院済国災害医療センター)、山本 明彦]

## XIII. バルトネラ菌に関する研究

### 1. *Bartonella quintana* に特異性の高い血清診断法確立

高 IFA IgG 抗体価を示すホームレス血清では、*B. quintana* Hemin-binding protein (Hbp)D 抗体を産生し、本菌由来心内膜炎患者血清では HbpB 及び HbpD 抗体を産生していた。Hbp を抗原とした血清診断法において、*Coxiella burnetii* との交差反応を調べた結果、ELISA とウエスタンブロットで高い反応性は認められなかった。[久保田真由美、佐々木裕子、柴山恵吾]

## レファレンス業務

### I. 薬剤耐性菌関係

1. 薬剤耐性遺伝子の解析および薬剤耐性菌の分子疫学解析の為にコントロール株(抽出 DNA 含む)、および標準作業手順書の提供

地方衛生研究所および医療機関における薬剤耐性菌解

析に協力するため、メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子、プラスミド性キノロン耐性遺伝子、16S rRNA メチラーゼ遺伝子、基質拡張型 β-ラクタマーゼ遺伝子、OXA 型 β-ラクタマーゼ遺伝子のコントロール株または抽出 DNA を提供した。*Acinetobacter* 属についてはタイピング解析のための参照株を提供した。また、*Acinetobacter* 属の薬剤耐性菌解析のための標準作業手順書の提供も行った。

## II. 百日咳関係

### 1. 百日咳 LAMP 診断キットの供与

百日咳実験室診断の強化・拡充を目的に、地方衛生研究所 32 施設に百日咳 LAMP 診断キット(14 キット)ならびに *Bordetella holmesii*-LAMP キット(38 キット)を供与した。また、百日咳陽性コントロール DNA を 15 施設に供与した。[鯉坂裕美、大塚菜緒、蒲地一成]

## サーベイランス業務

### I. 院内感染対策関係

1. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業(JANIS)の運営

厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業(JANIS)は検査部門、全入院患者部門、手術部位感染(SSSI)部門、集中治療室(ICU)部門、新生児集中治療室(NICU)部門の 5 部門より構成されており、平成 24 年 2 月現在、国内の 1000 医療機関が参加している。事業で収集した院内感染や薬剤耐性菌による感染症の発生状況、薬剤耐性菌の分離状況を一般や参加医療機関に公開、還元するとともに、平成 24 年度は 1220 件の問い合わせ対応を行った。また、システム改善として、集計アルゴリズムの確認集計作業、ICU 部門の入力支援ソフト更新、還元情報・公開情報のレイアウト刷新・参加医療機関との情報共有を促進するための年 4 回のニュースレター(JANIS 通信)の発行を開始、閲覧促進のためのイラスト集の作成、等を行った。[山岸拓也、筒井敦子、網中真由美、鈴木里和、小川(宮永)由弥子、瀧世志江、柴山恵吾]

2. 院内感染対策サーベイランス事業におけるデータ解析手法に関する検討

ア. 全入院患者部門の罹患率と施設特性との相関

入院期間に影響されない罹患密度で比較した場合、持ち込み例の割合を考慮しても、急性期医療機関のほうが、長期療養型病床を中心とした医療機関よりも薬剤耐性菌感染症の罹患密度が高い事が明らかになった。さらに現在、急性期医療機関と長期療養型病床を中心とした医療機関とを比較する事の有用性は乏しく、将来的には層別

化したうえで施設間比較が必要と考えられた。[鈴木里和、網中眞由美、筒井敦子、山岸拓也、柴山恵吾、荒川宜親]

イ. JANIS 検査部門 2010 年年報のための精度管理から判明した疑義データの検討

検査部門に提出されたデータの精度管理を行った結果、疑義データを検体提出なしや大腸菌報告なし、または特殊な耐性を示す菌の報告とした場合、すべての報告が誤りであり、入力ミスなどがほとんどであった。そのため、該当するデータを報告した医療機関に警告メールを送信するシステムを稼働したところ、これらの誤報告が減少した。JANIS のデータ精度を高めるためには、参加医療機関への注意喚起と共に警告システムの導入が有用と考えられた。[山岸拓也、鈴木里和、網中眞由美、筒井敦子、柴山恵吾、荒川宜親]

ウ. JANIS 全入院患者部門におけるデータ提出状況と病床数、サーベイランス担当者の職種の関係についての検討

JANIS 全入院患者部門参加医療機関の病床数とサーベイランス担当者の職種、およびデータ提出状況の関連について検討した。病床数はデータ提出状況と関連はなく、患者発見のきっかけとなる微生物検査にかかわる検査技師の協力が重要であることが示唆された。その上で全入院患者部門におけるサーベイランスシステム構築には、検査技師をはじめ組織的に多職種が連携していく必要があると考えられた。[網中眞由美、山岸拓也、鈴木里和、筒井敦子、柴山恵吾、荒川宜親]

## II. 百日咳関係

### 1. 百日咳の病原体診断

医療機関（9 施設）からの依頼を受けて、百日咳患者の病原体診断を 14 件実施した。[鯉坂裕美、大塚菜緒、蒲地一成]

## 品質管理に関する業務

### I. 生物学的製剤の品質管理に関する業務研究

#### 1. Hib ワクチンのエンドトキシン試験における自家試験と検定の乖離について

2010 年後半より出検された Hib ワクチンのエンドトキシン試験において自家試験成績と検定成績の乖離が 2～3 倍と顕著になった（検定成績が高い）。この原因を明らかにするため自家試験と検定の SOP を比較し、検体の調製、攪拌、調製後の保存法について検討したが乖離の原

因を明らかにすることはできなかった。そこで自家試験担当者と手技の手合わせを実施し、SOP には明記されていなかった検体の攪拌法および攪拌時間に乖離の原因があることを明らかにした。[持田恵子、蒲地一成]

## II. 抗生物質製剤の品質管理に関する業務研究

### 1. 収去検査による抗生物質医薬品の品質管理研究

今年度の医薬品等一斉監視指導・収去検査（後発医薬品品質確保対策）は、抗生物質医薬品の注射剤（注射用ホスホマイシンナトリウム：14 ロット／先発品と後発品を栃木県で収去）について力価試験（Bioassay 定量法）、確認試験（IR 及び NMR 解析）、エンドトキシン試験を、注射剤（セフォチアム塩酸塩：3 ロット／注：東日本大震災の影響により一部後発品のみ福島県で収去）について力価試験（HPLC 定量法）、確認試験（IR 及び NMR 解析）、エンドトキシン試験を、経口剤（セフカペンピボキシル塩酸塩錠：16 ロット／細粒：9 ロット／先発品と後発品を大分県で収去）について力価試験（HPLC 定量法）、確認試験（NMR 解析）を行い、検査結果を報告した。セフカペンピボキシル塩酸塩細粒の力価試験で 2 ロットが「不適合（含量過多 1 ロット、含量不足 1 ロット）」と判定された。なお、それ以外のロットの全ての試験は「適合」と判定された。[近田俊文・鈴木里和・松井真理・和知野純一・柴山恵吾・南條友子・粕谷裕子（細菌第二部）、宮崎義継・村上裕子・金子幸弘・深澤秀輔・石川 淳・星野泰隆（生物活性物質部）、細菌第二部第五室、血液・安全性研究部第三室]

### 2. 収去検査でのセフカペンピボキシル塩酸塩錠・細粒の含量結果について

収去検査のセフカペンピボキシル塩酸塩錠（含量規格 90.0～105.0%）・細粒（含量規格 90.0～110.0%）の HPLC 定量法について、日局各条に完全には準拠しない方法（標準品の採取量を規定量の半量とした場合、試料の溶解を規定時間より約 6 倍に長くした場合）による結果を最終判定に用いることができるか否かを検討した。試験担当部（生物活性物質部）では、結果は試験精度などを根拠に科学的には正しいと判断したが、厚生労働省からは日局通則 13（規定の方法以上の真度及び精度がある場合）に該当するか？との回答を得たことにより、試験担当部では完全に日局準拠する方法で全ての収去検体について「再試験」を行うことに決定した。日局準拠での細粒の結果は、長生堂製薬株式会社（製造番号 VJ023）で含量過多（111.1%）、辰巳化学株式会社（製造番号 VACB）で含量不足（88.5%）となり「不適合」と判定し、

## 細菌第二部

不適合の理由書の「報告書」を作成した。一方、日局準拠での錠の結果は、全て「適合」であったが、後発品 1 ロットで 90.6%と含量規格の下限に近いこと等から同「報告書」にも特記した。これらの「報告書」及び全ての生データを含む結果は、所内決裁後、厚生労働省監視指導・麻薬対策課宛に提出された。[宮崎義継・村上裕子・深澤秀輔・金子幸弘・石川 淳・星野泰隆（生物活性物質部）、柴山恵吾・近田俊文・鈴木里和・松井真理・和知野純一（細菌第二部）、渡邊治雄（所長）、倉根一郎（副所長）、厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課]

### III. 標準品の整備並びに品質管理に関する業務研究

#### 1. 日本薬局方アムホテリシンB標準品のロット更新評価試験について

日局アムホテリシンB標準品のロット更新について、標準候補品 3 ロット（Lot D、Lot E、Lot F）の日局各条準拠・純度試験（アムホテリシン A 含量）を行った。昨年度の Bioassay 法による日局標準品 Lot C に対する力価キャリブレーション試験結果、今年度の純度試験結果及びその他の品質評価試験結果を総合的に評価して、アムホテリシン A を含有しない標準候補品 Lot F を日局標準品とすることに決定し、ロット更新を完了した。なお、標準候補品 Lot D、Lot E（各々アムホテリシン A を数%含有）は品質管理用・参考品とした。[近田俊文、南條友子、鈴木里和、松井真理、森茂太郎、粕谷裕子]

#### 2. 日本薬局方抗生物質標準品の新規ロットの品質評価に関する業務研究

日局抗生物質標準品の新規ロットについて、各種の品質評価試験（Lot to Lot 力価キャリブレーション試験を含む）の結果から総合的に判定を行い、14 品目（アムホテリシン B、テイコプラニン、アジスロマイシン、セフメタゾール、クラリスロマイシン、スルバクタム、プレオマイシン A<sub>2</sub> 塩酸塩、エピルピシン塩酸塩、アンピシリン、メロペネム、ジノスタチンスチマラマー、ペプロマイシン硫酸塩、コリスチンメタンスルホン酸ナトリウム、バンコマイシン塩酸塩）でロット更新が完了し、新規ロットで製品交付を開始した。[近田俊文、鈴木里和、松井真理、森茂太郎、和知野純一、南條友子、粕谷裕子]

#### 3. 日本薬局方抗生物質標準品の現行ロットの品質再評価に関する業務研究

日局抗生物質標準品の現行ロットの品質再評価について、HPLC 定量法による 9 品目（テトラサイクリン塩酸塩、リンコマイシン塩酸塩、セフェピム塩酸塩、アモキシシ

リン、ドキシソルピシン塩酸塩、セフジニル、リファンピシン、セフトジジム、クリンダマイシンリン酸エステル）及び Bioassay 法による 3 品目（フラジオマイシン硫酸塩、エリスロマイシン、ゲンタマイシン硫酸塩）を行い、品質上に問題ないことを確認した。[近田俊文、松井真理、森茂太郎、和知野純一、鈴木里和、南條友子、粕谷裕子]

#### 4. BCG ワクチン国際参照品株候補品の試験

BCG ワクチン国際参照品の選定に関わる国際共同研究として、候補品である BCG Moreau 株の力価測定と mPCR による菌株同定を行った。力価は従来のコロニー数測定による方法と、代替法の ATP 定量による方法により測定を行った。[森茂太郎、堀野敦子、持田恵子、和知野純一、林原絵美子、柴山恵吾]

### IV. 国家検定、国家検査、収去検査、承認前検査、依頼試験について

#### 1. 国家検定、検査、抜取検査について

(1) 第三室：製剤担当室として、沈降精製ジフテリア破傷風トキソイド、沈降精製破傷風トキソイド、成人用沈降ジフテリアトキソイド、沈降精製ジフテリア破傷風トキソイドに用いるジフテリアトキソイド原液、沈降精製ジフテリア破傷風トキソイドに用いる破傷風トキソイド原液、および乾燥ウマボツリヌス抗毒素 (A, B, E, F 型)、試験担当室として、沈降精製百日せきジフテリア破傷風トキソイドおよび抗破傷風人免疫グロブリンの国家検定を行った。[加藤はる、岩城正昭、山本明彦、小宮貴子、見理剛、妹尾充敏、岡宮洋子]

(2) 第四室：製剤担当室として、乾燥 BCG ワクチン、乾燥 BCG 膀胱内用 (日本株)、乾燥 BCG 膀胱内用 (コンノート株)、及び精製ツベルクリンの国家検定を実施した。また、試験担当室として、経口生ポリオワクチンに係る国家検定のうちモルモット腹腔内接種試験を行った。[森茂太郎、堀野敦子、持田恵子、和知野純一、林原絵美子、森修一（感染制御部）]

(3) 第五室：沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン（最終段階）、百日せき力価試験、マウスヒスタミン増感試験、エンドトキシン試験 [福田靖、久保田眞由美、持田恵子、大塚菜緒、鯉坂裕美、蒲地一成] インフルエンザ HA ワクチン、マウス白血球減少試験 [福田靖、久保田眞由美、持田恵子、大塚菜緒、鯉坂裕美、蒲地一成] 細菌製剤ならびに血液製剤、エンドトキシン試験 [持田

恵子、久保田眞由美、蒲地一成]

## 2. 国家検査（行政検査）の実績

(1) 薬剤耐性遺伝子および薬剤耐性菌のタイピング解析のを以下の通り実施した。さいたま市健康科学研究センター (*K. pneumoniae*)、新潟県保健環境科学研究所 (*P. aeruginosa*、*P. aeruginosa*)、青森県環境保健センター (*K. pneumoniae*)、群馬県衛生環境研究所 (*E. coli*)

### (2) マイコプラズマ関連

ア. 平成23年5月 佐賀県衛生薬業センターより肺炎マイコプラズマ検査の依頼を受けた。本件は知的障害者施設で入所者、職員を含めて72名が発症した集団発生事例であり、感染研に送付された患者の咽頭拭い液検体から、肺炎マイコプラズマの遺伝子が LAMP 法と PCR 法で検出された。[堀野敦子、見理 剛]

イ. 平成23年5月 埼玉県衛生研究所より、肺炎マイコプラズマ検出に関する行政検査の依頼を受けた。結果は陰性だった。[見理 剛、堀野敦子]

### (3) 第三室：ボツリヌス症関連

平成23年4月名古屋市（乳児ボツリヌス疑い）患者便（陰性）、4月さいたま市（ボツリヌス菌疑い菌）菌株（陰性）、5月栃木県（乳児ボツリヌス疑い）患者便、血清（陰性）、5月岐阜県（ボツリヌス疑い（成人））患者便、血清（陰性）、6月岡崎市（乳児ボツリヌス）患者便他 陽性（A型）、6月福山市（乳児ボツリヌス疑い）患者便他（陰性）、7月横浜市（菌株同定依頼）菌株（陰性）、9月神奈川県（乳児ボツリヌス疑い）患者便（陰性）9月愛媛県（乳児ボツリヌス疑い）患者便（陰性）平成24年1月愛知県（乳児ボツリヌス疑い）患者便、血清（陰性）[担当：見理剛、山本明彦、岩城正昭、加藤はる]

### (4) 第三室：破傷風関連

平成24年1月鹿児島県（患者創部より分離された菌株）破傷風毒素原性陽性 [担当：山本明彦、岩城正昭、加藤はる]

### (5) ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン

ア. 依頼試験として、ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン（皮内用 0.5 mg）の力価試験を行った。[森茂太郎、堀野敦子、持田恵子、和知野純一、林原絵美子]

イ. ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン（皮内用 0.5 mg）

40 ロットの書類審査を行った。[森茂太郎、堀野敦子、和知野純一、林原絵美子]

### (6) 鼻疽・類鼻疽菌関係

ア. 鼻疽菌の分離同定；H24年1月4日受付、依頼者；高知県衛生研究所長。尿路感染症患者の検体を病院検査室で全自動細菌検査装置にて同定したところ鼻疽菌との判定がでたため、同定検査依頼を受けた。尿検体と咽頭ぬぐい液検体について培養法と 16S rRNA 遺伝子塩基配列解析を行った結果、この菌は *Providencia* 属であった。（細菌行政検査；第17209号）[担当；堀野敦子]

イ. 類鼻疽菌の分離同定；H24年3月1日受付、依頼者；札幌市保健所長。類鼻疽流行地域であるオーストラリアに渡航歴のある原因不明熱患者の血液検体について、類鼻疽菌検出の依頼を受けた。培養法と検体から抽出したゲノム DNA を用いた類鼻疽菌の遺伝子に特異的な核酸検査法の結果、いずれの方法でも検体から類鼻疽菌は検出されなかった。（細菌行政検査；第17247号）[担当；堀野敦子]

## 3. 収去検査の実績

### (1) 第一室：抗生物質医薬品

注射剤（注射用ホスホマイシンナトリウム）、注射剤（注射用セフォチアム塩酸塩）、経口剤（セフカペンピボキシル塩酸塩錠）、経口剤（セフカペンピボキシル塩酸塩細粒）について収去検査を実施した。[近田俊文、鈴木里和、松井真理、和知野純一]

## 4. 承認前検査の実績

### (1) 承認前試験における無菌試験法ならびにマイコプラズマ否定試験法の書類精査

承認前試験において、不活化ポリオワクチン（ソーク株）製剤の無菌試験法の標準作業手順書（SOP）の精査を実施するとともに当該製剤の生物学的製剤基準案作成に関与した。また、不活化ポリオならびに DPT 製剤について、CTD におけるマイコプラズマ否定試験法の精査を実施した。[佐々木裕子、柴山恵吾]

(2) 第三室：沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ（セービン株由来）混合ワクチンの承認前検査が開始され、ジフテリアトキソイドおよび破傷風トキソイド関連の書類審査や試験の準備を行った。[加藤はる、岩城正昭、山本明彦、小宮貴子、妹尾充敏、岡宮洋子]

## 5. 標準品、参照品の制定

ジフテリア試験毒素(培養細胞法用)平成23年4月制定、標準沈降破傷風トキソイド平成23年4月制定、参照沈降破傷風トキソイド平成23年4月制定

## 国際協力関係業務

### I. WHO 関連

1. WHO 西太平洋事務局が主催した、災害医療と薬剤耐性菌に関する会議に出席し、意見交換を行った〔鈴木里和〕

2. WHO の生物製剤(ジフテリア、破傷風関連)に関する recommendation 制定作業

DT、DPT、DPT-IPV など D と T を基本成分として含む混合ワクチン(DT-based combination vaccines)の WHO recommendation 制定作業、および D と T それぞれの WHO minimum requirement の見直し(recommendation 制定)が現在行なわれている。この作業を行なうため、2011年6月の Drafting Group(ジュネーブ)および11月の WHO informal consultation(北京)に WHO テンポラリーアドバイザーとして参加した〔岩城正昭〕

3. WHO 西太平洋事務局が主催した西太平洋地域における新興感染症研究所強化に関する会合に出席し、日本における感染研と地方衛生研究所とのネットワークについて紹介し、また各国の状況について意見交換を行った。〔柴山恵吾〕

### II. JICA 関係

1. JICA ワクチン品質管理技術コース参加研修生(海外5名)にワクチンの品質管理について講義した(2011年11月)。〔岩城正昭、久保田真由美、佐々木裕子、落合雅樹〕

## 研修業務

### I. 薬剤耐性菌に関する研修

1. 薬剤耐性遺伝子の検出および分子疫学解析の手法に関する研修を、地方衛生研究所の解析担当職員および感染症情報センター実地疫学専門家養成プログラム研修生に対して行った。〔松井真理、和知野純一、鈴木里和、近田俊文、柴山恵吾〕

2. 第32回衛生微生物協議会において、NDM-1産生多剤耐性腸内細菌についての講演を行った。(2011年6月、東京)〔和知野純一〕

3. 平成23年度希少感染症診断技術研修会において、

NDM-1等カルバペネマーゼ産生菌についての講演を行った。(2012年2月、東京)〔和知野純一〕

4. 平成23年度希少感染症診断技術研修会において、薬剤耐性菌総論についての講演を行った。(2012年2月、東京)〔鈴木里和〕

5. 第25回公衆衛生情報研究協議会において、厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)公開・還元情報の活用方法についての講演を行った。(2012年1月、埼玉)〔鈴木里和、柴山恵吾〕

### II. 生物学的製剤の品質保証に関する研修

1. 国立保健医療科学院における短期研修薬事衛生管理研修コースにおいて、「生物学的製剤の品質保証の現状」ならびに「微生物管理と試験法」について講義を行うと共に、GMP査察演習の下見、引率、指導を行った(平成23年5-6月)。〔佐々木裕子、加藤はる〕

### III. マイコプラズマに関する研修

1. 国立医療科学院細菌研修でマイコプラズマの講義を行った。(平成23年11月)〔見理 剛〕

2. 希少感染症技術研修会でマイコプラズマの講義を行った。(平成24年2月)〔見理 剛〕

## その他

### I. 行政科学等に対する対応

1. 日本薬局方の抗生物質委員会、標準品委員会に関する活動: 独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門委員として、日本薬局方原案審議委員会の抗生物質委員会に出席し、第16改正日本薬局方(追補を含む)の新規収載案及び既収載改正案の審議に従事した。〔近田俊文〕

2. 抗生物質医薬品の試験法についての対応: 日本薬局方、日本薬局方外医薬品規格(第四部)及び旧日本抗生物質医薬品基準に収載された抗生物質医薬品(標準品を含む)の規格及び試験法等についての照会に対して、E-mail等による書面での回答を行った。〔近田俊文〕

3. 生物学的製剤基準の改正に向けて、「一般試験法、マイコプラズマ否定試験法に関する実態ならびに意識調査」を実施し、その結果を研究班員に報告した(厚生労働科学研究: 医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス総合研究事業)。その後、当該試験法の生物基改正案を

作成した。[佐々木裕子、岩城正昭、柴山恵吾]

4. 厚生労働省医薬食品局、監視指導・麻薬対策課より各都道府県衛生主管部局に発出された「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針(平成18年7月4日事務連絡)」の改訂作業を実施し終了した。平成23年4月20日付けで改訂版が発出された。(厚生労働科学研究:医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス総合研究事業)解説書の作成に携わった。[佐々木裕子、他指針作成委員]

5. 薬事・食品衛生審議会薬事分科会 動物用医薬品等部会 動物用生物学的製剤調査会が4回開催され出席した〔山本 明彦〕

6. 独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門委員として、承認申請された診断薬の審査を行った。[柴山恵吾]

## II. 感染症等についての対応

1. 薬剤耐性菌等についての対応: 薬剤耐性菌の検査診断等に関する相談窓口として taiseikin@nih.go.jp (メーリングリスト) を開設し、医療機関や地方衛生研究所等からの質問、相談に個別に対応し、回答を行った。[鈴木里和、松井真理、和知野純一、近田俊文、柴山恵吾]

2. 医療施設や地域の勉強会において *Clostridium difficile* 感染症に関する講演を行う、電話や email で個々の相談に対応する等の対応をした。

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Wachino J, Yamaguchi Y, Mori S, Yamagata Y, Arakawa Y, Shibayama K. Crystallization and preliminary X-ray analysis of the subclass B3 metallo- $\beta$ -lactamase SMB-1 that confers carbapenem resistance. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 2012 Mar 1;68(Pt 3):343-6.

2) Wachino J, Yoshida H, Yamane K, Suzuki S, Matsui M, Yamagishi T, Tsutsui A, Konda T, Shibayama K, Arakawa Y. SMB-1, a novel subclass B3 metallo- $\beta$ -lactamase, associated with *ISCR1* and a class 1 integron, from a carbapenem-resistant *Serratia marcescens* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Nov;55(11):5143-9.

3) Wachino J, Yamane K, Arakawa Y. Practical disk-based method for detection of *Escherichia coli* clinical isolates

producing the fluoroquinolone-modifying enzyme AAC(6')-Ib-cr. J Clin Microbiol. 2011 Jun;49(6):2378-9.

4) Tsutsui A, Suzuki S, Yamane K, Matsui M, Konda T, Marui E, Takahashi K, Arakawa Y. Genotypes and infection sites in an outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. J Hosp Infect. 2011 Aug;78(4):317-22.

5) Oie S, Obayashi A, Yamasaki H, Furukawa H, Kenri T, Takahashi M, Kawamoto K, Makino S. Disinfection methods for spores of *Bacillus atrophaeus*, *B. anthracis*, *Clostridium tetani*, *C. botulinum* and *C. difficile*. Biol Pharm Bull. 2011; 34(8):1325-9.

6) Kenri T, Horino A, Matsui M, Sasaki Y, Suzuki S, Narita M, Ohya H, Okazaki N, Shibayama K. Complete genome sequence of *Mycoplasma pneumoniae* type 2a strain 309, isolated in Japan. J Bacteriol. 2012 Mar; 194(5):1253-4.

7) Miura M, Kato H, Matsushita O. Identification of a novel virulence factor in *Clostridium difficile* that modulates toxin sensitivity of cultured epithelial cells. Infect Immun. 2011 Sep;79(9):3810-20.

8) Kawada M, Annaka M, Kato H, Shibasaki S, Hikosaka K, Mizuno H, Masuda Y, Inamatsu T. Evaluation of a simultaneous detection kit for the glutamate dehydrogenase antigen and toxin A/B in feces for diagnosis of *Clostridium difficile* infection. J Infect Chemother. 2011 Dec;17(6):807-11.

9) Kato H, Arakawa Y. Use of the loop-mediated isothermal amplification method for identification of PCR ribotype 027 *Clostridium difficile*. J Med Microbiol. 2011 Aug;60:1126-30.

10) Tierney R, Stickings P, Hockley J, Rigsby P, Iwaki M, and Sesardic D.: Collaborative study for the calibration of a replacement international standard for tetanus toxoid adsorbed. Biologicals 39: 404-416, 2011.

11) Katsukawa C, Komiya T, Yamagishi H, Ishii A, Nishino S, Nagahama S, Iwaki M, Yamamoto A, and Takahashi M.: Prevalence of *Corynebacterium ulcerans* in dogs in Osaka, Japan. J. Med. Microbiol. 61: 266-273, 2012.

12) Hifumi T, Yamamoto A, Morokuma K, Ogasawara T, Kiriu N, Hasegawa E, Inoue J, Kato H, Koido J, and Takahashi M, Surveillance of the clinical use of mamushi (*Gloydius blomhoffii*) antivenom in tertiary care centers in Japan. JJID. 2011; 64(5): 373-6.

13) Rimbara E, Noguchi N, Kawai T, Sasatsu M. Fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*: role of mutations at position 87 and 91 of GyrA on the level of resistance and identification of a resistance conferring

mutation in GyrB. *Helicobacter*. 2012 Feb;17(1):36-42.

14) Li Y, Rimbara E, Thirumurthi S, Trespalacios A, Reddy R, Sabounchi S, Attumi TA, Graham DY. Detection of clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* following noncryogenic storage of rapid urease tests for 30 days. *J Dig Dis*. 2012 Jan;13(1):54-9.

15) Mori S, Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y. Structural insights into the novel diadenosine 5',5'''-P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-tetrphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *J Mol Biol*. 2011 Jul 1;410(1):93-104.

16) Ito M, Kusunoki H, Mochida K, Yamaguchi K, Mizuochi T. HCV infection and B-cell lymphomagenesis. *Adv Hematol*. 2011;2011:835314.

17) Otsuka N, Han HJ, Toyozumi-Ajisaka H, Nakamura Y, Arakawa Y, Shibayama K, Kamachi K. Prevalence and genetic characterization of pertactin-deficient *Bordetella pertussis* in Japan. *PLoS One*. 2012;7(2):e31985.

## 2. 和文発表

1) 鈴木里和, 山根一和, 和知野純一, 松井真理, 近田俊文, 荒川宜親我が国における新たな多剤耐性菌の実態調査. *日本臨床* (0047-1852) 70 巻 2Page187-191 (2012. 02)

2) 鈴木里和, 荒川宜親【感染症サーベイランス-その役割と展望】厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) 事業. *臨床と微生物* (0910-7029) 38 巻 4 号 Page329-334 (2011. 07).

3) 近田俊文: 抗生物質の微生物学的力価試験法、日本薬局方技術情報 (JPTI) 2011、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス編、168-175、じほう、2011年8月。

4) 近田俊文: 抗生物質の微生物学的力価試験法、必携日本薬局方試験法ガイド<日局 16 対応>、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団、313-323、じほう、2011年12月。

5) 近田俊文、加藤はる、鈴木里和: 抗生物質の微生物学的力価試験法、第 16 改正 図説 日本薬局方微生物試験法の手引き、坂上吉一監修、36-45、文教出版、2012年2月。

6) 佐々木裕子、講座; こうすればできる日本薬局方微生物試験 (無菌試験法)、防菌防黴、vol. 40, 51-60、2012.

7) 見理 剛: バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験、第 16 改正 図説 日本薬局方微生物試験法の手引き、坂上吉一 監修、文教出版 2012年2月

8) 佐々木裕子、講座; こうすればできる日本薬局方微生物

試験 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験)、防菌防黴、vol. 40, 247-258、2012.

9) 加藤はる: Chapter 2 集中治療医編 7. *Clostridium difficile* 腸炎に対する診断と抗菌薬治療. 竹末芳生、山田芳嗣 編集 麻酔・集中治療医のための抗菌薬使用と感染対策. 京誠堂出版株式会社, p120-126. 2012.

10) 加藤はる: 3-6 クロストリジウム・ディフィシル感染症. 感染症事典 オーム社 p80-85. 2012.

11) 大橋一孝、河合裕美、渡邊美菜子、山本詩子、岡崎恵美、高野由喜子、早川希威、佐藤敏夫、大花 昇、山本夏男、今福裕司、塚田泰彦、須釜久美子、小黒祐子、山本明彦、高橋元秀、金光敬二: 臨床情報による的確な検体処理で *Clostridium tetani* の分離に成功した破傷風の一例、日本臨床微生物学雑誌、vol.21, No.1: 35-39, 2011.

12) 中野朋美、中村進一、山本明彦、高橋元秀、宇根有美: 飼育下ニホンザル (*Macaca Fuscata*) 群における破傷風の集団発生、獣医畜産新報、vol.64, No.10: 809-811、2011.

13) 蒲地一成、中村幸嗣、岡田賢司: 百日咳 最近の話題. *Vita*, 116:1-15, 2011.

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

1) Suzuki S: Molecular epidemiology of drug-resistant bacteria in Japan. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. 2011 Sapporo.

2) Suzuki S, Yamane K, Tsutsui A, Yamagishi T, Arakawa Y.: Japan Nosocomial Surveillance System (JANIS), a national surveillance system of antimicrobial resistance and nosocomial infections in Japan 21st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)/27th International Congress of Chemotherapy (ICC)(2011 Milan, Italy).

3) Sasaki Y, Ishikawa J.: A study of comparative genomics in mycoplasma and acholeplasma; different parasitic strategies in different host ranges. The 5th meeting of Asian Organization for Mycoplasma, October 2011, Nagasaki.

4) Kenri T, Yamamoto A, Iwaki M, Shibayama T, Takahashi M.: Genetic characterization of *Clostridium botulinum* strains isolated from infant botulism cases in Japan in 2011 48th Annual Interagency Botulism Research Coordinating Committee (IBRCC) Meeting, October 5-7, 2011, Santa Fe, NM, USA.

5) Kato, H. Molecular epidemiology of *Clostridium difficile*

infection in Japan. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo Japan.

6) Ishiwa A, Iwaki M, Nishiyama T, Miura H, Arakawa Y, Hatanaka K, and Takahashi M. Adsorption of botulinum toxin B (16S toxin) to sugar-coupled hollow fiber. 15th European Workshop Meeting on Bacterial Protein Toxins. June 2011, Oslo, Norway.

7) Ishiwa A, Iwaki M, Nishiyama T, Miura H, Arakawa Y, Hatanaka K, and Takahashi M. Attempt for removal of type B botulinum 16S toxin from biological fluid by sugar-coupled hollow fiber. 2011 Interagency Botulinum Research Coordinating Committee, October 2011, Santa Fe, USA.

8) Yamamoto A, Kenri T, Iwaki M, Komiya T, Takahashi M, and Shibayama K: *Clostridium tetani* clones identified by multilocus variable-number tandem-repeat analysis. 7<sup>th</sup> International Conference on Basic and Therapeutic Aspects of Botulinum and Tetanus Toxins, October 2011, Santa Fe, USA.

9) Rimbara E, Shibayama K.: Molecular Epidemiology of *Helicobacter cinaedi* isolates in Japan. XIII International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS), September 2011, Sapporo, JAPAN.

10) Mori S, Shibayama, K, Wachino J, Arakawa Y.: Structural Insights into the Novel Doadenosine Tetraphosphate Phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. XIII International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS), September 2011, Sapporo, JAPAN.

11) Shibayama K, Takeuchi H, Wachino J, Mori S, Arakawa Y. Pathophysiological Role of *Helicobacter pylori* Asparaginase. XIII International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS), September, 2011, Sapporo, Japan.

## 2. 国内学会

1) 和知野純一、吉田弘之、山根一和、松井真理、鈴木里和、山岸拓也、筒井敦子、近田俊文、柴山恵吾、荒川宜親. 新型メタロ-β-ラクタマーゼ SMB-1 の機能解析. 第 40 回薬剤耐性菌研究会, 2011 年 12 月, 渋川.

2) 和知野純一、鈴木里和、山根一和、松井真理、山岸拓也、筒井敦子、近田俊文、柴山恵吾、荒川宜親. 我が国におけるカルバペネマーゼ産生多剤耐性菌の実態に関する研究. 第 23 回日本臨床微生物学会総会, 2012 年 1 月, 横浜.

3) 和知野純一、吉田弘之、鈴木里和、松井真理、山根一

和、山岸拓也、筒井敦子、近田俊文、柴山恵吾、荒川宜親. 臨床分離カルバペネム耐性 *Serratia marcescens* より発見された新規メタロ-β-ラクタマーゼ SMB-1 の解析. 第 23 回日本臨床微生物学会総会, 2012 年 1 月, 横浜.

4) 和知野純一、柴山恵吾、荒川宜親. プラスミド性 16S rRNA メチルトランスフェラーゼによるアミノグリコシド高度耐性機構. 第 85 回日本細菌学会総会, 2012 年 3 月, 長崎.

5) 松井真理、鈴木里和、山根一和、和知野純一、山岸拓也、筒井敦子、近田俊文、柴山恵吾、荒川宜親. 我が国における多剤耐性腸内細菌科菌種のカルバペネマーゼ遺伝子保有実態調査. 第 40 回薬剤耐性菌研究会, 2011 年 12 月, 渋川.

6) 松井真理、鈴木里和、山根一和、山岸拓也、荒川宜親. 我が国におけるカルバペネマーゼ産生多剤耐性腸内細菌の実態に関する研究. 第 27 回日本環境感染学会総会, 2012 年 2 月, 福岡.

7) 山岸拓也、網中眞由美、鈴木里和、荒川宜親. JANIS 検査部門の提出データの精度管理に関する検討. 第 27 回日本環境感染学会総会, 2012 年 2 月, 福岡

8) 鈴木里和、山岸拓也、網中眞由美、荒川宜親. JANIS 全入院患者部門の病院特性に基づく層別化解析に関する検討. 第 27 回日本環境感染学会総会, 2012 年 2 月, 福岡

9) 網中眞由美、山岸拓也、鈴木里和、荒川宜親. JANIS 全入院患者部門におけるデータ提出状況と病床数、サーベイランス担当者の職種の関係についての検討. 第 27 回日本環境感染学会総会, 2012 年 2 月, 福岡

10) 本間操、鈴木里和、鈴木智一、根岸久実子、柏谷淳、浦邦子、稲葉千絵、野村勝美、常松範子、柴山恵吾. 白血病患者の血液培養で分離された多剤耐性 *Klebsiella pneumoniae*. 第 23 回日本臨床微生物学会総会 2012 年 1 月, 横浜

11) 佐々木裕子: The reductive evolution and gene duplication to create new functions in the genome of mycoplasma. 第 85 回日本細菌学会総会, 2012 年 3 月, 長崎

12) 佐々木裕子、マイコプラズマとアコレプラズマにおけるゲノムの退行進化と重複遺伝子の特徴から見る寄生戦略. 日本ゲノム微生物学会ワークショップ, 2011 年 8 月, 仙台.

13) 加藤はる: *Clostridium difficile* による医療関連感染と感染管理. 第 85 回日本感染症学会総会, 2011 年 4 月, 東京.

14) 加藤はる: *Clostridium difficile* の流行株・優勢株. 第 14 回日本臨床腸内微生物学会総会学術総会,

2011年9月, 東京.

15) 加藤はる: タイピング解析からみる *Clostridium difficile* 感染症. 第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会, 2011年10月, 山形.

16) 加藤はる: *Clostridium difficile* 感染症(CDI)の細菌学的検査に関して. 第54回日本感染症学会中日本地方会学術集会. 2011年11月, 奈良.

17) 加藤はる: *Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査と結果の解釈. 第23回日本臨床微生物学会総会. 2012年1月, 横浜.

18) 加藤はる: *Clostridium difficile* 感染症について. 第27回日本環境感染学会総会. 2012年2月福岡.

19) 加藤はる: *Clostridium difficile* infections in Japan. 第5回インターナショナルワクチンワークショップ2012年2月, 東京.

20) 吉村幸浩、山本明彦、小宮貴子: *Corynebacterium ulcerans* による腋窩リンパ節膿瘍の一例. 第85回日本感染症学会総会、2011年4月, 東京.

21) 三井一賢、伏見拓矢、吉澤定子、細野なつ絵、館田一博、山本明彦、小原 明、館野昭彦、関根孝司、山口恵三、佐地 勉: 明らかな外傷歴がなく診断に苦慮した破傷風の幼児例. 第85回日本感染症学会総会、2011年4月, 東京.

22) 一二三亨、山本明彦、金村剛宗、長谷川栄 寿、加藤宏、井上潤一、小井土雄一、高橋元秀: まむし咬傷の臨床像と治療薬の有効性に関する調査報告. 日本救急医学会 2011年10月, 東京.

23) 水野泰孝、竹下 望、金川修造、高崎智彦、山本明彦、小宮貴子、高橋元秀: 海外渡航者における年齢別に見た破傷風及び日本脳炎ワクチン追加接種の効果. 第15回日本ワクチン学会学術集会、2011年12月, 東京.

24) 森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、荒川宜親: 結核菌由来新規 diadenosine 5',5'''-P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-tetrphosphate 加リン酸分解酵素の活性発現に関わる構造的要因の解明. 第63回日本生物工学大会. 2011年9月. 東京.

25) 森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親: 結核菌由来ニコチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼの機能解析とピラジン酸による抗結核菌活性との関連性. 日本農芸化学会 2012年度大会. 2012年3月. 京都.

26) 堀野敦子: 肺炎マイコプラズマの検出法. 第85回日本細菌学会総会. 2011年3月. 長崎.

27) 大塚菜緒、柴山恵吾、蒲地一成: 百日咳菌に認められる自己凝集能の解析. 第95回日本細菌学会総会、2012年3月、長崎.

28) 蒲地一成: 百日咳の実験室診断、困難な青年・成人患者の診断. 第60回日本感染症学会東日本地方学術集会・第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同地方会、2011年10月、山形.

29) 大塚菜緒、吉野修司、豊泉(鯨坂)裕美、大平文人、蒲地一成: 百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* に特異的な LAMP 検出系の開発. 第60回日本感染症学会東日本地方学術集会・第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同地方会、2011年10月、山形.

30) 大塚菜緒、吉野修司、河野喜美子、豊泉(鯨坂)裕美、柴山恵吾、蒲地一成: LAMP法を用いた百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* 検出系の開発. 第94回日本細菌学会関東支部総会、2011年10月、東京.

### 3. その他(紀要・ホームページ等)

1) Mori S, Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y. Crystal structure of a novel diadenosine 5',5'''-P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-tetrphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Photon Factory Activity Report 2010 #28 Part B (2011), P260.

2) Mori S, Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y. Crystal Structure of a Novel Diadenosine 5',5'''-P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-Tetrphosphate Phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> PDB ID: 3ANO.