

5. 細菌第二部

部長 荒川 宜親

概要

細菌第二部は、主に呼吸器系感染症を引き起こす各種の病原細菌に関する研究や調査を担当するとともに、院内感染症の原因となる各種の薬剤耐性菌や毒素産生性の嫌気性菌の調査や解析、細菌感染症と特定疾患などの原因不明の疾患との関連性の研究、抗酸菌やヘリコバクターなどの慢性持続性感染症起因菌に関する研究などを担当している。これらの研究は、複数の厚生労働科学研究費補助金や文部科学研究費補助金などを獲得して実施され、地方衛生研究所や国内外の大学等研究機関、医療機関等との連携や共同研究により、後述するような様々な成果を上げた。また、所管する病原菌に関し、地方衛生研究所などと協力しつつ行政検査等のレファレンス業務を担当している。一方、DPT ワクチンや Hib ワクチン、BCG 製剤、抗生物質製剤、各種抗毒素製剤（抗血清）の国家検定や収去検査、承認前検査などを担当している。

これらの多様な業務は第一室から第五室の5つの研究室の分担と連携で実施されている。具体的には、第一室では、薬剤耐性菌やそれによる感染症の調査や研究、厚生労働省の院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業の事務局機能とともに、国内で製造・販売されている抗生物質製剤の収去検査、日本薬局方に収載されている抗生物質標準品の製造と管理などを担当している。第二室では、マイコプラズマやインフルエンザ菌に関する研究や検査を担当し、その他、*Clostridium difficile*、*Bartonella quintana*、ペニシリン低感受性 *Streptococcus agalactiae*（PRGBS）などの解析や研究を担当している。同時に、ワクチンなどの生物学的製剤の無菌試験や無菌性保証に関する対応、ヘモフィルス b 型ワクチン（Hib ワクチン）の国家検定を担当している。第三室は、ジフテリアの原因菌である *Corynebacterium diphtheriae* やそれに関連する *Corynebacterium* 属菌の検査や研究、破傷風菌やボツリヌス菌等の毒素産生性の偏性嫌気性菌の解析や研究、レファレンスを担当し、これらによる感染症の予防や治療に用いる、ワクチンや抗毒素製剤の国家検定等の品質管理を担当している。第四室では、持続性感染症の原因となる抗酸菌やヘリコバクターに関する研究とともに、BCG 製剤や精製ツベルクリンの国家検定などを担当している。第五室では、最近、成人で問題となっている百日咳菌に関する解析や研究を担当し、同時に、百日咳ワ

クチンの力価試験や特殊毒性試験、幾つかの生物学的製剤におけるエンドトキシン試験、更にインフルエンザ HA ワクチンなどの特殊毒性試験などを担当している。また、生物学的製剤の品質管理に必要な生物統計に関する照会対応なども担当している。

その他、部長や室長は、所管する病原体や感染症、生物学的製剤、抗生物質製剤に関連して、WHO や厚生労働省、農林水産省、内閣府食品安全委員会などの各種専門委員会等の委員、医薬品医療機器総合機構（PMDA）の専門委員などとして行政機関の機能や業務を専門的な観点から支援している。

国際的には、WHO の“Collaborating Center for Research and Reference Services for Immunological and Biological Products”としての活動し、様々な国際会議等に参加した。

常勤職員の異動としては、平成 20 年 5 月 1 日付で落合雅樹主任研究官が検定検査品質保証室（細菌第二部併任）に配置換えされた。平成 20 年 8 月 31 日付で薬剤耐性菌の研究や抗生物質の品質管理を担当した柴田尚宏主任研究官が出身医局の関連病院に転出された。平成 20 年 9 月 1 日付で韓 賢子が任期付研究員（第五室）として採用され、平成 21 年 3 月 1 日付で韓国の国立 Chonnam 大学に転出された。平成 20 年 10 月 1 日付で和知野純一が研究員（第四室）として採用され、平成 21 年 2 月 1 日付で木村幸司が主任研究官として採用された。また、平成 21 年 3 月 31 日付で、長年、無菌試験やインフルエンザ菌の解析や研究等に貢献のあった新谷三春主任研究官が定年退官された。臨時職員として瀬川晶子、甲斐久美子、瀧 世志江、宮永由弥子、筒井敦子、南條友子、粕谷裕子、吉村由美子、増田まり子、久保田（松岡）真由美、長岡芳昭、岡宮洋子、本郷有美子、鯉坂裕美、片岡紀代（業務管理課所属）が在籍し、研究補助及び事務補助等に従事した。また、客員研究員として佐々木次雄、協力研究員として黒川博史、八木哲也、土井洋平、長沢光章、長野則之、川村久美子、坂本 崇、玉井清子、吹貝姿子、林 淑朗、岩島康仁、村端真由美、鈴木弘倫、森本泰隆、山下美穂子、山田幸司、三浦英靖、山田耕二、本間 操、畑中公基、流動研究員として木村幸司、和知野純一、朴 貞玉、韓 賢子、石和玲子、研究生として長野由起子、吉田理紗、中村幸嗣、実習生として Lisa K.Wong が在籍し、病原細菌等に関する様々な研究を行った。

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

医療機関等から依頼を受けた菌株・検体について、薬剤耐性遺伝子検査、毒素遺伝子検査、菌株タイピング解析、菌種同定、*Clostridium difficile* 分離同定、*C. difficile* 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、*Enterococcus* spp. (77 株)、*Staphylococcus* spp. (35 株)、*Streptococcus* spp. (228 株)、*Clostridium* spp. (329 株)、*Pseudomonas* spp. (192 株)、*Escherichia coli* (687 株)、*Enterobacter* spp. (9 株)、*Serratia marcescens* (6 株)、*Citrobacter* spp. (11 株)、*Proteus mirabilis* (7 株)、*Providencia* spp. (5 株)、*Klebsiella* spp. (11 株)、*Acinetobacter* spp. (14 株)、*Alcaligenes xylosoxidans* (1 株)、*Morganella morganii* (1 株)、*Neisseria gonorrhoeae* (1 株)、*Helicobacter cinaedi* (3 株)、*Bacillus cereus* (14 株)、*Corynebacterium* sp. (1 株)、*Streptomyces menjimariensis* (1 株)、その他 (1 株) であった。なお、菌株等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。[鈴木里和、山根一和、加藤はる、柴田尚宏、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、木村幸司、和知野純一、近田俊文、荒川宜親]

2. VIM-1 型メタロ-β-ラクタマーゼを産生する多剤耐性緑膿菌の院内感染事例の解析

兵庫県の医療機関から送付された多剤耐性緑膿菌のカルバペネム耐性に関連する耐性因子の検索を行ったところ、日本で報告のない VIM-1 型メタロ-β-ラクタマーゼを産生していることが明らかとなった。また、複数の患者から同様の感受性を示す株が分離されたことからパルスフィールドゲル電気泳動法によるタイピングを行ったところ同一のクローンであることが明らかになった。[山根一和、鈴木里和、甲斐久美子、荒川宜親]

3. *Bacillus cereus* の院内感染事例の解析

千葉県の同一医療機関に入院中の複数の患者から分離された *B. cereus* をパルスフィールドゲル電気泳動法によるタイピングによって同一のクローンであることを明らかにした。[山根一和、鈴木里和、甲斐久美子、荒川宜親]

4. 薬剤耐性菌による院内感染事例の疫学的/分子疫学的

解析

医療機関において発生した多剤耐性緑膿菌、多剤耐性アシネトバクター、ESBL 産生大腸菌による各院内感染事例について、耐性遺伝子の解析、及び PFGE 解析による遺伝子型別などを実施、疫学情報とあわせて感染源感染経路についての検討を行った。更に、ESBL 産生大腸菌に関しては同一クローン株の広域伝播が大腸菌の薬剤耐性率に及ぼす影響についての検討を実施した。[鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、筒井敦子]

5. バンコマイシン耐性腸球菌によるアウトブレイク時の有用なスクリーニング法の検討

バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) による院内感染が発生した際の実用的かつ効率的なスクリーニング方法について、検体の採取方法、採取回数、培養方法などを検討した。直腸スワブを 3 回採取し、VRE 選択平板培地に直接塗布する方法が推奨された。[鈴木里和、山根一和、筒井敦子]

6. バンコマイシン耐性腸球菌の保菌に関連する危険因子

埼玉県下の 13 医療機関において入院患者を対象にバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の保菌調査を行い、VRE 保菌が明らかになった 14 名と VRE 陰性であった 26 名について保菌に関する調査を症例対照研究によって明らかにした。単変量解析の結果、制酸剤の使用、抗菌薬の事前使用、VRE 保菌者と同じ病棟に入院中の患者などが危険因子となった。[山根一和、鈴木里和、荒川宜親]

7. 基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ遺伝子の 2 種類同時保有 *Enterobacter cloacae* の β-ラクタマーゼ解析とプラスミド解析

敗血症をきたした症例の血液培養から第 3 世代セファロスポリン耐性 *E. cloacae* が分離されたが、この分離菌は extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) 産生が疑われた。耐性遺伝子解析により SHV-12 型と CTX-M-14 型の 2 つの ESBL 産生遺伝子を保有していることが明らかとなった。アジア地域でも同様の ESBL 産生菌が報告されており、染色体性 AmpC 過剰産生 *E. cloacae* が複数の β-ラクタマーゼを産生すると、抗菌薬の選択が困難になるために注意を喚起した。[柴田尚宏、本間 操、荒川宜親]

8. ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の出現時期の推定
1977 年から 2005 年に国内で分離された B 群連鎖球菌

について、ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の有無を検討した結果、最も古いペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌は 1995 年に分離されたものである事が明らかになり、日本では 1990 年代中期にペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌は出現したと推定された。[木村幸司、荒川宜親]

II. 抗菌薬関連下痢症/*Clostridium difficile* 等に関する研究

1. *Clostridium difficile* BI/NAP1/027 株の PCR による検出

C. difficile の BI/NAP1/027 株に特異的な *slpA* 遺伝子配列からプライマーを設計し、BI/NAP1/027 株の PCR による迅速・簡便な同定法を開発した。[加藤はる]

2. *Clostridium difficile* の院内伝播に関する検討

日本の医療施設において、*C. difficile* 感染症の発症率を求め、どのような菌株が流行しているのかを調べる目的で、3 施設において分離された合計 104 菌株の解析を行った。病院 A では、複数症例への伝播を示唆するクラスターは認められるものの、同一クローンが施設内にひろがっている所見はなかった。病院 B 及び病院 C では、それぞれ異なるタイプの菌株が優勢であり、遺伝子背景が同一の菌株が施設内で伝播していることが示唆された。

[加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江（感染研）、中村 敦、加藤秀章、岩島康仁、脇本幸夫、柴山順子、矢野久子、近藤優子（名古屋市立大学）、赤羽貴行、床尾万寿雄、高橋一豊、小林厚幸、山田揚子、高橋郁美（安曇野赤十字病院）、酒井 力、辻村秀樹、里村秀行、前田佐知子（千葉県がんセンター）]

3. 解析を依頼された検体あるいは *Clostridium difficile* 菌株の検討

重症例からの検体や菌株、施設内感染が疑われた事例、binary toxin 遺伝子陽性菌株の検討を行った。[加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江]

4. *Clostridium difficile* 以外の *Clostridium* spp. の依頼解析

腹膜炎症例の腹水から分離された *Clostridium perfringens* の解析を依頼され、major toxin 及び enterotoxin 遺伝子の検出解析を行った。また、ショック状態で入院し死亡した症例から、及びガス壊疽症例から分離された *Clostridium* spp. の同定が依頼され、*Clostridium septicum*、及び、*Clostridium sporogenes*、*Clostridium sordellii* と同定

した。[加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江]

III. マイコプラズマに関する研究

1. マイコプラズマ感染における肺外病変の病態ならびに特定疾患との関連性についての解析

マイコプラズマが関与する可能性がある肺外病変として、リウマチ性関節炎について多数の疫学報告がなされている。関節腔からの *Mycoplasma fermentans* 遺伝子検出は、疫学報告の中でも有意差があることから、我々は、マイコプラズマ感染関節炎動物モデルを作成し、病態解析を行なっている。平成 20 年度は、新規診断、予防法の開発の評価の基礎となる関節病変のスコア化を試みた。関節腔への *M. fermentans* 生菌投与群においては、リンパ濾胞形成、滑膜増生などヒトのリウマチ性関節炎類似所見が観察され、そのスコアは、培地投与群の 3 倍の高値を示した。本モデルを用いた新規診断、予防法評価系作成の可能性が示唆された。[佐々木裕子、山田耕二・三浦英靖・松田和洋（エムバイオテック）、永田典代・原嶋綾子（感染病理部）、網 康至・須崎百合子（動物管理室）、荒川宜親、佐々木次雄]

2. *Mycoplasma pneumoniae* の変異株ライブラリーの作製

M. pneumoniae の病原性を理解する上で役立つ変異株を取得するために、我々が考案した *M. pneumoniae* のトランスポゾン Tn4001 挿入変異位置を簡便に決定する方法を用いて *M. pneumoniae* の変異株ライブラリーの構築を行っている。今年度も引き続き変異株コレクションの作製を継続した。[堀野敦子、見理 剛]

3. 臨床検体からの *Mycoplasma pneumoniae* の遺伝子学的検出法・分離法の検討

患者からの *M. pneumoniae* の菌体分離・遺伝子検査を適切かつ簡便に行うために、問題点の解決にむけて検討を行ってきた。その結果、採取した咽頭スワブ検体を常温で輸送するには、これまで病原体検出マニュアルに記載されていた輸送培地よりも、研究室で通常使用している PPLO 液体培地（10%ウマ血清、2.5%グルコース、AP200）が菌体分離に相当であることが明らかになった。この検討結果に基づき、病原体検出マニュアルに記載されている輸送培地を変更する予定である。[堀野敦子、見理 剛、吉野 学（栄研化学）、厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症事業費]

IV. インフルエンザ菌／細菌性髄膜炎起因菌に関する研究

1. 小児侵襲性感染症由来 *Haemophilus influenzae* の疫学的解析

昨年度に引き続き 2008 年 3 月～2009 年 3 月に 8 県で小児侵襲性感染症から分離された *H. influenzae* 58 株について、生物型別、血清型別、薬剤感受性試験等により解析を行った。昨年度報告分の 34 株を合わせた計 92 株中、血清型については 90 株が b 型で、生物型については 1 型が最も多く (57 株、62%)、次いで 2 型 (24 株、26%)、4 型 (9 株、10%) であった。β-ラクタマーゼ産生株は 92 株中 13 株 (14%) であった。現在標準的に使用されているセフトキシムとメロペネムに対して感受性カテゴリー内にはとどまるものの、MIC が高い菌株が少なくなかった。[新谷三春、加藤はる、佐々木裕子、木村幸司、久保田(松岡)眞由美、荒川宜親、宮村達男(所長)]

2. 小児細菌性髄膜炎培養陰性症例の起因菌推定

細菌性髄膜炎が疑われる小児症例から採取された培養陰性の髄液検体を用いて、遺伝子解析による起因菌推定を行った。繁用されている検出系である *Haemophilus influenzae* の 16S rRNA 遺伝子、*Streptococcus pneumoniae* の *lytA* 遺伝子 (自己溶菌酵素)、*Neisseria meningitidis* の *crgA* 遺伝子 (contact-regulated gene A) 検出の PCR を行った。2007 年 8 月より、5 県から細菌第二部に送付された 13 検体において、*S. pneumoniae lytA* 遺伝子陽性検体及び *N. meningitidis crgA* 遺伝子陽性検体が各 1 検体ずつ認められた。現在は、PCR 検出の対象起因菌を増やすとともに更に検出感度を上げた系での検出を試みている。[久保田(松岡)眞由美、佐々木裕子、新谷三春、加藤はる、荒川宜親]

V. ジフテリアに関する研究

1. 犬猫及び畜産動物における *Corynebacterium ulcerans* の分布調査並びに細菌学的及び遺伝子学的な解析

昨年 7 月に国内で初めてジフテリア毒素産生性 *C. ulcerans* を大阪府の犬管理指導所の調査で分離し、同所の継続調査と国内数カ所での調査を実施した。本年度は大阪府の犬の調査では 399 頭のうち 40 頭で菌分離が陽性であった。菌の解析結果と収容所の管理状況調査により、犬から犬への伝播は容易であることが明らかとなった。犬から分離した菌株は過去にジフテリア様症状の人から分離された株との遺伝子学的解析では、相同性において

類似性が確認された。宮城県、群馬県、岡山県で実施した犬猫 (84 頭) 及び畜産動物 (牛 : 700 頭、豚 : 100 頭) の調査では、本菌は検出されなかった。[高橋元秀、小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、見理 剛(国立感染症研究所)、勝川千尋、河原隆二、井上 清(大阪府立公衆衛生研究所)、山岸寛明、太田 優、西野俊治(大阪府犬管理指導所)、中嶋 洋、狩屋英明(岡山県環境保健センター)、安井正広、難波泰治、片山真琴、井戸 司(岡山県食肉衛生検査所)、小林知也、東 正秋、橋本英典、藤原慎一(岡山県動物愛護センター)、畠山 敬、渡邊 節(宮城県保健環境センター)、吉岡幸信(宮城県食肉衛生検査所)、森田幸雄、小澤邦寿(群馬県衛生環境研究所)、松本寿男(群馬県中央食肉衛生検査所) : 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* のリポタイピングによる解析研究

本邦においてヒトから初めて分離された *C. ulcerans* の 2 菌株についてリポタイピングによる解析を行なった。昨年度の解析では 2 菌株は同一のパターンを示したように見えたが、より高精度になるように改良された解析法を用いたところ、2 菌株のリポタイプが互いに異なることが判明した。現在、英国 Health Protection Agency と共同で、これらのリポタイプと海外分離菌のリポタイプの比較を行なっている。[岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀]

3. ジフテリア菌 C7(-)株及び PW8 株に関する研究

ジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*) C7(-)株が PAI (pathogenicity islands) のほとんどを欠きながら、細胞接着性など病原性の兆候を残していることを昨年報告した。今回、ジフテリア菌ワクチン株 PW8 株について、C7(-)株同様のゲノム解析 (Comparative Genomic Hybridization 法による) を行なった。PW8 株は、極めて病原性が低いと考えられているが、PAI のほとんどを持っていることが判明した。しかし、ゲノム株と比較すると小規模な塩基配列の相違が全ゲノムにわたって散在しており、このことが病原性の低さと関連している可能性が考えられた。[岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀]

4. LAMP 法によるジフテリア毒素遺伝子検出系の開発

LAMP 法は日本で開発された遺伝子増幅法で、操作の簡便性と高感度のため広く普及しつつある。我々は 2005 年度年報で、LAMP 法によるジフテリア毒素遺伝子検出系の開発について報告した。本年度は、咽頭スワブからの検出系の確立をめざして、まず模擬咽頭スワブ (咽頭

洗浄液に既知量のジフテリア菌を添加し綿棒に染み込ませたもの)を作成し、模擬スワブを蒸留水中で加熱した上清を LAMP 法の試料とすることで、検出できる最小の菌量を見積もった。その結果、スワブあたり 30 cfu の菌でジフテリア毒素遺伝子が検出可能であった。[岩城正昭、小宮貴子、山本明彦、高橋元秀]

VI. 破傷風及びボツリヌス等に関する研究

1. 日本国内の土壌での破傷風菌の分離

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、今回 26 都道府県から 320 検体の土壌を採取し、その三分の二について菌の分布状況を調べた。土壌 220 検体について、26 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、荒川宜親、高橋元秀]

2. ボツリヌス毒素高感度迅速検出系のサンドイッチイムノ PCR 法及びイムノクロマトキットの開発

マウス接種法に代わるボツリヌス毒素の高感度迅速検出系としてサンドイッチイムノ PCR 法及びイムノクロマトキットの開発を検討した。サンドイッチイムノ PCR の予備検討としてサンドイッチ ELISA において A 型神経毒素約 300 pg/mL の検出系を確立し、この反応条件を基に市販キットを使用してサンドイッチイムノ PCR では 100 pg/mL の毒素を検出した。また、イムノクロマトキットについては、金コロイドの検出系で約 10 ng/mL (1000 マウス ipLD50/mL) の毒素を検出する試作品が完成した。今後、国内ボツリヌスレファレンスセンター等に配布して有用性の検証・確認を行う。[高橋元秀、見理剛、向本雅郁・小崎俊司 (大阪府立大)、東 成見・黒澤良和 (藤田保健衛生大学)、高山勝好・小林行治 (㈱アドテック): 厚生労働科学研究費補助金、新興・再興感染症研究事業]

3. 糖鎖を用いたボツリヌス毒素除去法及び検出法の開発研究

糖鎖を用いたボツリヌス毒素除去法及び検出法を開発するため、B 型ボツリヌス 16S 毒素の精製を行なった。7 種の B 型ボツリヌス菌について、Western blotting により毒素産生能の比較を行ない、産生能が高いと判断された "111" 株及び "Okra" 株について、それぞれ毒素の精製を行った。"111" 株の 1L 培養からは、硫酸沈澱とイオン交

換カラムクロマトグラフィーにより約 3.2 mg の毒素を精製した。一方、"Okra" 株の 10L 培養から、硫酸沈澱法により、約 29.7 mg の毒素を抽出し、更にこれの一部をイオン交換カラムクロマトグラフィーにより精製し、約 1.7 mg の精製毒素を得た。精製した毒素はラクトースアフィニティーカラムに結合することが確認されており、糖鎖を用いた毒素除去法、検出法の開発に有用と期待された。[石和玲子 (化学技術戦略推進機構)、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親]

VII. 結核等抗酸菌に関する研究

1. 結核菌のピラジナミド作用メカニズムの解析

結核の治療薬であるピラジナミドの作用機構の解析をおこなった。ピラジナミドの代謝に関わると予想される酵素の精製を行った。[朴 貞玉、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

2. 抗酸菌の迅速な新規鑑別法の開発

昨年度までに開発した抗酸菌の鑑別 PCR 法を改良し、臨床的に重要な *Mycobacterium kansasii* を鑑別出来る方法を開発した。[森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、和知野純一、荒川宜親、松本智成、阿野裕美 (大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター)]

3. 結核菌由来の新規加リン酸分解酵素に関する研究

機能未知タンパク質である結核菌由来 Rv2613c の詳細な機能解析を行い、本タンパク質が diadenosine tetraphosphate 加リン酸分解酵素であることを初めて明らかにした。本酵素は既知の diadenosine tetraphosphate 加リン酸分解酵素と比較して、一次構造の特徴と基質特異性が大きく異なっていた。[森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、荒川宜親]

4. 結核菌由来タンパク質の高次構造解析に関する研究

複数の結核菌由来タンパク質について、高次構造を決定して詳細な構造機能相関解析を行うため、スクリーニングキットを用いた結晶化条件の探索を行った。その結果、結核菌由来 diadenosine tetraphosphate 加リン酸分解酵素について高次構造解析に適した結晶が得られた。得られた結晶を用いて放射光科学研究施設で回折データの収集を行い、その結晶学的諸性質を明らかにした。[森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、荒川宜親]

5. 非結核性抗酸菌の薬剤耐性メカニズムの解析

トランスポゾン (Tn5) による *Mycobacterium avium* の

遺伝子破壊系を構築した。ランダム変異体を作製後、薬剤感受性を測定した。薬剤感受性が変化した変異体についてTn5の挿入位置を決定したところ、薬剤排出ポンプやミコール酸合成に関連する遺伝子への挿入が確認された。[和知野純一、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

6. *Mycobacterium avium* 感染マウスの造血機能に関する研究

M. avium 感染のマウス造血幹細胞機能に対する影響を調べるプロジェクトをスタートさせた。病原性 *M. avium* ATCC25291 株を C57BL/6 マウス静脈内に投与し、経時的に肺、脾臓及び骨髄内生菌数を還元培養により求めた。感染後 12 週まで各臓器内菌数は増加し続け、12 週目には顕著な体重減少と死亡する個体も出現した。8 週目の造血機能は著明に低下し、*M. avium* 感染が造血機能低下により全身の免疫低下にも寄与する可能性が示唆された。

[持田恵子、柴山恵吾、森茂太郎、益見厚子、滝澤和也、濱口 功]

VIII. 百日咳に関する研究

1. 百日咳菌タイプ III エフェクターBopC の IS481 による発現制御

百日咳流行株は病原因子の allele タイプからワクチン型と欧米型に分けられ、欧米型にはタイプ III エフェクターBopC の高発現が認められる。そこで、百日咳流行株における BopC 発現制御機構を明らかにすることを目的に、*bopC* の転写開始点ならびに転写量について検討を行った。その結果、ワクチン型における BopC の負の発現制御は IS481 挿入による転写量の低下ではなく、転写後の調節によることが判明した。[韓 賢子、蒲地一成、桑江朝臣・阿部章夫（北里生命研）、荒川宜親]

2. 百日咳体外診断薬における凝集反応用抗原の再評価

百日咳の血清診断である菌凝集素価法について、凝集反応用抗原の再評価を行った。凝集用抗原株（山口株、東浜株）と臨床分離株（26 株、2005～2008 年分離）との遺伝的相同性を比較したところ、東浜株（凝集因子 2, 4）は臨床分離株と異なる遺伝子型（clade C）、山口株（凝集因子 3, 6）は臨床分離株と等しい遺伝子型（clade B）を持つことが示された。また、すべての臨床分離株が凝集因子 3, 6 を保有し、その凝集素価は山口株と同等であることが判明した。[蒲地一成、福田 靖、鯉坂裕美、韓 賢子、岡田賢司（福岡病院）、荒川宜親]

3. 咳嗽成人患者を対象とした百日咳保菌率調査

わが国のワクチン接種プログラムの再評価を目的に、咳嗽を主訴とする成人患者に対し百日咳菌の保菌率を調査した。4 医療機関の協力を得て LAMP 法による遺伝子検査を実施したところ、咳嗽成人患者の 28.8% (77 名/267 名) に百日咳菌 DNA が検出された。また、成人と小児の流行時期が一致したことから、「大人から子供」または「子供から大人」への感染が高頻度に起きている可能性が指摘された。乳幼児への百日咳感染を防止するためには、他の先進国と同様にワクチン接種プログラムの見直しが必要と考えられた。[蒲地一成、鯉坂裕美、中村 敦（名古屋市大・医）、中島夏樹（聖マリアンナ医大）、石川 隆（東大・保健センター）、多屋馨子、荒川宜親、岡部信彦、岡田賢司（福岡病院）]

4. 臨床検体を用いた百日咳菌タイピング法の迅速化に関する検討

臨床検体からの百日咳菌タイピング法（multilocus sequence typing, MLST）には操作性ならびに迅速性が劣るという欠点があり、本法の迅速化を目的に改良を行った。従来法の nested-PCR について PCR プライマーと酵素を検討したところ、異なる 3 種類の PCR を同一条件で行うことが可能となり、改良法では操作性と迅速性が向上した（全工程 2 日間）。また、改良法は高い検出感度（2.4 genomic DNA copies）を有し、更に臨床検体に対する解析率（84.6%）は従来法よりも優れていることが示された。[蒲地一成、韓 賢子、鯉坂裕美、荒川宜親]

IX. その他の病原細菌に関する研究

1. *Helicobacter pylori* の asparaginase の解析

H. pylori の asparaginase を精製して、病原性への関与を調べた。U937細胞に対して顕著な細胞毒性を示すことが分かった。[柴山恵吾、森茂太郎、和知野純一、荒川宜親]

2. *Burkholderia pseudomallei* 同定法の検討

平成 20 年度よりタイ・コンケン大学と感染研（細菌第二部、免疫部）との間で類鼻疽についての共同研究が開始された。初年度はタイ東北部の類鼻疽の流行地域に位置するコンケン大学において、類鼻疽の診断法と流行地域での分離同定法について現地の専門家と意見交換を行った。現在、細菌第二部で保有している株について、同定法を試みている。[堀野敦子、山根一和、荒川宜親]

3. HCV 感染者における B 細胞リンパ腫発症に関する研究

HCV 感染が B 細胞リンパ腫発症に及ぼす影響を明らかにするため、HCV 感染者末梢血の免疫染色により感染細胞を特定した。HCV コア蛋白または NS5A に対する免疫染色と B 細胞マーカーである CD19 に対する免疫染色を同時に行い、それぞれの抗原の局在を検出した。その結果、HCV 抗原と CD19 は同一細胞に見出され、B 細胞が HCV 感染の標的になっていることが明らかにされた。[持田恵子、益見厚子、伊藤昌彦、水落利明、山口一成]

X. 生物学的製剤に関する研究

1. 乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）に対するラットの抗 PRP 抗体応答に及ぼす DTaP の影響

平成 19 年度までの研究において、乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）（以下 PRP-TT と略）と一部 DTaP 製剤との混合接種群が、抗 PRP 抗体応答低下傾向を示した。そこで PRP-TT と国内 5 社製の DTaP を用いて確認実験を行った。SD ラット（雌 4 週齢）各群 5 匹に、各ワクチンを 0.04 SHD ずつ 0, 4 週に混合接種、あるいは同時別部位接種した。0, 4, 6 週に採血し、血清抗 PRP-IgG を ELISA により測定した。上記一部 DTaP 製剤混合接種群の抗 PRP 抗体応答低下傾向は再現せず、本条件下では抗 PRP 抗体応答に DTaP の影響は認められないことが確認された。[新谷三春、佐々木裕子、加藤はる、久保田(松岡)眞由美、長岡芳昭、増田まり子、荒川宜親]

2. ウマ抗毒素製剤の製造効率化のための免疫方法の検討

ウマ抗毒素製剤の製造効率化のために免疫方法を検討した結果、ガスエス抗毒素の BSE 対策として抗原調整に関し、米国産から豪州産への変更が可能となった。A 型ボツリヌス毒素中和マウスーヒトキメラ抗体の H 鎖、L 鎖遺伝子をシャッフルして得たキメラ抗体は、1 μ g/ml の抗体濃度で A 型神経毒素を完全中和した。また、E 型毒素中和キメラ抗体を産生する 1 クロームは、抗体濃度 5 μ g/ml で完全中和した。[高橋元秀、大隈邦夫(化血研)、黒澤良和(藤田保健衛生大)、向本雅郁(大阪府立大)、千葉 丈(東京理科大)：厚生労働科学研究費補助金医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業]

3. ワクチン製造用百日咳菌東浜株の菌株保証に関する検討

精製百日せきワクチンの製造には百日咳菌東浜株が用いられるが、現在まで細菌学的・遺伝子学的な菌株保証はなされていない。そこで、ワクチン製造所（5 施設）からワクチン製造用株を入手し、その細菌学的・遺伝子学的性状を参照東浜株（感染研保存株 L-7、ATCC BAA-589）と比較した。その結果、ワクチン製造用株と参照株に細菌学的な差異は認められず、更に allele タイプ、PFGE タイプ、RD 欠失といった遺伝子学的性状は一致した。[蒲地一成、福田 靖、韓 賢子、鯉坂裕美、持田恵子、近田俊文、堀内善信、荒川宜親、細菌製剤協会 DPT 技術委員会]

XI. 抗生物質製剤に関する研究

1. 抗生物質の微生物学的力価試験法の改良に関する研究

日本薬局方の一般試験法「抗生物質の微生物学的力価試験法」を実施する上での有用なデータ並びに改良点を提供することを目的に種々検討を行ってきた。それらの成果の一部は、出版物「新 GMP 微生物試験法：13.1 抗生物質医薬品の力価試験」において、データを含め解説を行った。[近田俊文、南條友子、鈴木里和、加藤はる、山根一和、柴田尚宏、粕谷裕子]

2. 日本薬局方抗生物質標準品と海外抗生物質標準品の表示力価の比較検討に関する研究

抗生物質標準品の表示力価について、日本 (JP)、米国 (USP)、ヨーロッパ (EDQM) の 3 局の標準品ロットを用いて日本薬局方「抗生物質の微生物学的力価試験法」で比較検討を行っている。現在までに、アミノグリコシド系抗生物質を中心に実施し、データを解析中である。[近田俊文、南條友子、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、粕谷裕子]

レファレンス業務

I. 薬剤耐性菌関係

1. バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) 検査のためのコントロール菌株及び標準作業手順書 (SOP) の提供

地方衛生研究所等の遺伝子検査等に協力するために、VRE の耐性遺伝子検出のコントロール菌株 (DNA 抽出物を含む) 及び SOP を、地方衛生研究所等に提供した。[近田俊文、鈴木里和、山根一和、加藤はる、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、柴田尚宏、荒川宜親]

2. 薬剤耐性菌の耐性遺伝子検査のためのコントロール

細菌第二部

菌株及び検査データ資料の提供

地方衛生研究所及び医療機関等の基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ産生菌、メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の遺伝子検査等に協力するために、それらのコントロール菌株を検査データ資料とともに提供した。[近田俊文、山根一和、鈴木里和、柴田尚宏、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、荒川宜親]

II. ジフテリア・百日咳関係

1. ジフテリア百日せきレファレンスセンター業務

第29回衛生微生物技術協議会研究会において、ジフテリア百日せきレファレンスセンター会議に出席し、20年度の活動内容の報告をした（2008年6月）。[高橋元秀、岩城正昭、山本明彦、蒲地一成、荒川宜親]

2. 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13施設に百日咳 LAMP 診断キット（20キット）の供与を行った。また PCR 用陽性コントロール DNA を1施設に供与した。[蒲地一成、鯨坂裕美]

III. その他

1. 海外旅行者のヒストプラズマ症の診断

マレーシアへ旅行して帰国した3名の若い女性が、発熱や胸部 X 線写真上、肺病変などを呈した。流行地域への渡航歴があり、3名とも肺病変であることから類鼻疽が疑われた。検体組織送付を依頼し、細菌第二部で核酸試験法、培養法で類鼻疽菌の検出を試みたが陰性であった。このため病理組織診断を感染病理部で試みたところ、ヒストプラズマ感染症が疑われた。そこで、病原性真菌症の担当の生物活性物質部と連携し、ヒストプラズマ症の診断確定に協力した。[山根一和、堀野敦子、荒川宜親、感染病理部、生物活性物質部]

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（SSI）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21年2月現在、全国の865医療機関が参加している。院内感染の発生状況、薬剤耐性菌の分離状況、薬剤耐性菌による感染症の発生状況などに関する情報を参加医療機関に還元するほか、

一般への情報公開も行っている。事務局機能を整備した結果、問い合わせ（平成20年度：555件）への速やかな対応や、ホームページ・資料などの改訂が可能となった。

[筒井敦子、鈴木里和、山根一和、宮永由弥子、瀧世志江、荒川宜親]

2. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）・全入院患者部門サーベイランス体制・還元情報の利用に関するアンケート調査

サーベイランスデータの精度管理及び還元情報の有効活用方法を検討する目的で、全入院患者部門におけるサーベイランス実施状況の実態調査を行った。サーベイランス体制は院内感染対策サーベイランス実施マニュアルの規定に則っている参加医療機関が大半を占めたが、感染症の判定基準の用い方にはばらつきがみられたため、統一した判定が可能となるような基準を定める必要がある。還元情報の感染対策への利用は半数程度にとどまったため、現場にフィードバックするように促していく必要があると考えられた。[筒井敦子、鈴木里和、山根一和、荒川宜親]

3. 院内感染対策サーベイランス事業の改善に関する検討

厚生労働省事業・院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）において収集されたサーベイランスデータの精度管理に関する検討を行い、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌やバンコマイシン耐性腸球菌といった院内感染対策上重要な耐性菌に関する報告がしばしば誤報告である事が明らかとなった。また、これらの誤報告が医療機関のサーベイランス担当者に認識されていない、認識された後も修正報告がなされない、といった問題点が明らかとなった。今後、参加医療機関とのより積極的な情報共有が可能なシステムの構築を進めることとした。[鈴木里和、山根一和、筒井敦子]

II. 百日咳関係

1. 百日咳菌の同定検査

医療機関からの依頼を受けて、百日咳菌の同定検査を3件実施した。[蒲地一成、鯨坂裕美]

2. 百日咳の病原体診断

医療機関（23施設）からの依頼を受けて、百日咳患者の病原体診断を77件実施した。[鯨坂裕美、持田恵子、福田 靖、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. 乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）の免疫原性に関するトレンド管理

平成 20 年度より乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）（以下ワクチンと略）の国家検定が開始され、次いで国内販売が開始された。国家検定試験項目に力価試験はなく、抗原（ハプテン）定量試験としての多糖含量試験が規定されている。そこで今後有効性管理のために市販ワクチンを購入してラットに免疫後、血中抗 PRP 抗体価を測定し、ロット毎の傾向を持続的に把握する。最初の連続 3 ロットについて SD ラット（雌 4 週齢）5 匹ずつに、0.04 SHD ずつ 2 回（0, 4 週）皮下接種し、接種前及び 6 週後に採血した。[佐々木裕子、新谷三春、加藤はる、久保田（松岡）眞由美、木村幸司、長岡芳昭、増田まり子、荒川宜親]

2. BCG 製剤の新しい力価試験方法の検討

BCG の力価試験において、小川培地に代わって 7H10 平板を用いて培養を行う方法について、昨年度に引き続き検討をおこなった。小川培地を用いる方法との相関を調べた。今後、更にデータを蓄積し、適切な統計処理方法を検討する予定である。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、和知野純一]

3. BCG 力価試験、有毒結核菌否定試験、菌量測定試験、及びツベルクリン力価試験の結果について

BCG ワクチン 16 ロット、膀胱用 BCG（日本株）3 ロット、膀胱用 BCG（イムシスト株）7 ロットについて力価試験を行い、全て合格だった。[森茂太郎、堀野敦子、和知野純一、持田恵子、本郷有美子、柴山恵吾]

膀胱用 BCG（イムシスト株）7 ロットについて菌量測定試験を行い、全て合格だった。[和知野純一、堀野敦子、森茂太郎、持田恵子、本郷有美子、柴山恵吾]

BCG ワクチン 17 ロット、膀胱用 BCG（日本株）5 ロット、膀胱用 BCG（イムシスト株）7 ロットについて有毒結核菌否定試験を行い、すべて合格だった。[堀野敦子、森茂太郎、本郷有美子、柴山恵吾]

ツベルクリン力価試験について、13 ロットについて試験を行い、全て合格だった。[持田恵子、和知野純一、森茂太郎、堀野敦子、本郷有美子、柴山恵吾]

なお膀胱用 BCG（イムシスト株）7 ロット中 1 ロットは、含湿度試験で不合格となったので、試験担当室、検定係、本省、及びメーカーとの対応を行った。[柴山恵吾、荒川宜親]

4. 生物学的製剤の国家管理制度の調査

生物学的製剤の国家管理制度について現地調査を行い、米国 FDA/CBER の国への影響がある米国と EU の管理体制を比較検証した。EU、米国ともに国家検定はプロトコール（SLP）審査、検定試験及び GMP 査察を総合的に実施している。米国のプロトコール審査は試験結果に重点を置いているのに対し、EU は自家試験結果と同時に製造の情報も求めている点で異なった。自家試験結果と製造における GMP 査察の実施状況、検定試験の実施対象品目や実施頻度と検定費用及び相互承認制度に関しては、多くの項目で異なる点が確認された。[高橋元秀、佐々木次雄・堀内善信（医薬品医療機器総合機構）、布施晃（感染症情報センター）、渡辺治雄（副所長）：厚生労働科学研究費補助金医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業]

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での収去検査は、抗生物質医薬品の注射剤（注射用セフピロム硫酸塩：8 ロット）について力価試験、確認試験（IR 及び NMR 解析）、エンドトキシン試験を、経口剤（セフテラムピボキシル錠：2 ロット／細粒：6 ロット）について力価試験、確認試験（IR 及び NMR 解析）を行い、検査結果を報告した。収去製剤の全ての試験で「適合」と判定された。なお、今年度から検体は卸売一般業者が保管する流通の製剤から収去されることとなった。また、HPLC 力価試験は SOP 等を整備して、生物活性物質部（戸山庁舎）で実施された。[近田俊文、山根一和、鈴木里和、柴田尚宏、南條友子、粕谷裕子、細菌第二部第五室、血液・安全性研究部第三室、生物活性物質部]

III. 標準品の整備並びに品質管理に関する業務研究

1. BCG 国際標準品候補品の試験

BCG の国際標準品の選定にあたって、国際共同研究を行うこととなり、3 つの候補品 Tokyo 株、Moscow 株、Danish 株について力価、及び mPCR 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した。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、和知野純一]

2. 日本薬局方エンドトキシン標準品 Lot 8 候補品の力価評定

日本公定書協会にて日本薬局方エンドトキシン標準品

(Lot 8) 候補品が作成され、標準プロトコールに従って、日本公定書協会、当研究室他（計7機関）で力価共同評定を実施した。3種のライセート試薬を用いて WHO エンドトキシン国際標準品に対する相対力価を算出し、エンドトキシン標準品 Lot 8 候補品の単位は 20,000 EU/バイアルと評価された。[落合雅樹、蒲地一成、中川ゆかり・村井敏美（日本公定書協会）]

3. 抗生物質医薬品標準品の日本薬局方微生物学的力価試験法での品質評価に関する業務研究

日本薬局方抗生物質標準品について、日局各条（原薬）収載の円筒平板法による微生物学的力価試験法（Bioassay）に準拠した定量法による品質評価試験を行った。サブロット更新を含め6品目の評価が完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。[鈴木里和、山根一和、南條友子、柴田尚宏、粕谷裕子、近田俊文]

4. 抗生物質医薬品標準品の日本薬局方液体クロマトグラフィー法での品質評価に関する業務研究

日本薬局方抗生物質標準品について、日局各条（原薬）収載の液体クロマトグラフィー法（HPLC）に準拠した定量法による品質評価試験を行った。サブロット更新を含め9品目の評価が完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。日局の紫外可視吸光度測定法に準拠した定量法による品質評価試験も1品目で完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。更に、2002年度に品質評価した新規日局標準品（5品目）について、HPLC法で再評価試験を行い、品質上に問題ないことを確認した。[柴田尚宏、山根一和、粕谷裕子、鈴木里和、南條友子、近田俊文]

IV. 国家検定、国家検査、収去検査、承認前検査、依頼試験等の実績

1. 国家検定の実績

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）：24 ロット

沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド：9 ロット

沈降破傷風トキソイド：8 ロット

成人用沈降ジフテリアトキソイド：1 ロット

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンに使用するジフテリアトキソイド原液：4 ロット

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンに使用する破傷風トキソイド原液：5 ロット

乾燥まむしウマ抗毒素：1 ロット

乾燥はぶウマ抗毒素：1 ロット

乾燥ボツリヌス抗毒素：1 ロット

抗破傷風人免疫グロブリン：5 ロット

乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）：8 ロット

インフルエンザ HA ワクチン：79 ロット

沈降新型インフルエンザワクチン（H5N1 株）（中間段階）：5 ロット

コレラワクチン：1 ロット

人血清アルブミン：246 ロット

加熱人血漿たん白：21 ロット

肺炎球菌ワクチン：8 ロット

乾燥BCGワクチン（最終製品）：16 ロット

乾燥BCG膀胱内用（日本株）（最終製品）80mg：2 ロット

乾燥BCG膀胱内用（日本株）（最終製品）40mg：1 ロット

乾燥BCG膀胱内用（コンノート株）：7 ロット

乾燥BCGワクチン（中間段階）：17 ロット

乾燥BCG膀胱内用（日本株）（中間段階）：5 ロット

精製ツベルクリン一般診断用（1 μ g）：1 ロット

精製ツベルクリン一般診断用（一人用）：12 ロット

2. 国家検査（行政検査）の実績

（1）薬剤耐性菌関係

栃木県保健環境センターからの行政検査依頼：2007年12月～2008年10月にかけて栃木県内の病院施設において多剤耐性緑膿菌（MDRP）が数名の患者から検出された。2007年8月に埼玉医大病院からの転院者があり、埼玉医大病院入院時にMDRPを保菌しているとの報告があった。これらのことから、分離されたMDRP（計16菌株）と埼玉医大病院MDRPとの比較について、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）による解析を行い、制限酵素地図（PFGE型）のタイピング解析結果を報告した。その結果は、埼玉医科大学病院でのMDRP集団発生に関連する菌株と依頼菌株との関連性を示唆する所見は得られなかった。一方、依頼菌株は全てPFGEによるバンドパターンが一致していることから、同一株が施設内で伝播していることを強く示唆されたので、標準予防策及び接触感染予防策を適切に実施し、これ以上の伝播を阻止するように伝達した。（細菌行政検査：第87102号）
[鈴木里和、近田俊文、荒川宜親]

（2）ジフテリア関係

平成21年1月15日名古屋記念病院（愛知県）から血清2本（平成21年1月11日採血、平成21年1月29日

細菌第二部

採血)ジフテリアの疑患者の血中ジフテリア抗毒素価の検査依頼を受けた。検査の結果、血清2本とも、ジフテリア抗毒素価は、検出限界以下であった。(細菌行政検査:第87142号)[小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀]

(3) 破傷風関係

ア)平成20年9月2日付けで、静岡市環境保健研究所から患者創部より分離された菌の同定の依頼を受けた。患者創部より検出された菌について、その培養上清はマウスを用いた毒素原性試験により破傷風毒素を検出した。(細菌行政検査:第87091号)[山本明彦、岩城正昭、見理剛、高橋元秀]

イ)平成20年10月10日付けで、岡山市保健所から患者血清の破傷風毒素の検出及び瘡蓋からの菌検出について依頼を受けた。患者血清中の破傷風毒素はマウスを用いた毒素原性試験の検出限界以下であった。一方、患者瘡蓋の培養上清はマウスを用いた毒素原性試験により破傷風毒素を検出した。この菌液より羊血液寒天培地での遊走先端部より破傷風菌を単離した。(細菌行政検査:第87099号)[山本明彦、岩城正昭、見理剛、高橋元秀]

ウ)平成21年1月27日付けで、大分県衛生環境研究センターより患者血清(12月18日採血)の破傷風毒素の検出と、患者齲歯及び周囲組織からの菌検出について依頼を受けた。患者血清中の破傷風毒素はマウスを用いた毒素原性試験の検出限界以下であり、0.16U/mLの抗破傷風毒素抗体を有していた。一方、患者創部組織の培養菌液には破傷風菌は検出されなかった。(細菌行政検査:第87141号)[山本明彦、岩城正昭、見理剛、高橋元秀]

(4) ボツリヌス関係

ア)平成20年8月に栃木県で発生したボツリヌス食中毒に関して、栃木県保健環境センター長名で行政検査の依頼を受けた。検査の結果、患者血清及び患者便からA型ボツリヌス毒素を検出した。また患者便からはA型ボツリヌス菌を分離した。しかし、食品残品などからボツリヌス菌は検出されなかった。(細菌行政検査:第87075号)[見理剛、岩城正昭、山本明彦、高橋元秀]

イ)平成20年9月に岩手県で発生した国内25症例目の乳児ボツリヌス症に関して、岩手県環境保健研究センター長名で行政検査の依頼を受けた。検査の結果、患者便からはA型ボツリヌス菌を分離した。食品残品や患者の生活環境から収集したサンプルからはボツリヌス菌は検出されなかった。(細菌行政検査:第87139号)[見理剛、岩城正昭、山本明彦、高橋元秀]

(5) BCG関係

ア)依頼検査として、ユニセフ向け乾燥BCGワクチン(皮内用0.5mg)6ロットについて実施した。[柴山恵吾、森茂太郎、堀野敦子、和知野純一]

イ)書類審査として、ユニセフ向け乾燥BCGワクチン(皮内用0.5mg)58ロットについて実施した。[柴山恵吾、森茂太郎、堀野敦子、和知野純一]

3. 収去検査の実績

(1) 抗生物質医薬品

注射剤(注射用セフピロム硫酸塩)(力価試験、エンドトキシン試験):8ロット

経口剤(セフテラムピボキシル錠)(力価試験):2ロット

経口剤(セフテラムピボキシル細粒)(力価試験):6ロット

4. 承認前検査及び抜取検査等の実績

(1)無菌試験:21件(承認前10件、抜取9件、依頼2件)

(2)エンドトキシン試験:承認前・肺炎球菌ワクチン(プレベナー)原末7件、小分3件

5. 標準品、参照品等の交付・分与の実績

(1) 交付実績

日本薬局方抗生物質標準品(92品目):計954本

抗生物質試験用菌株(2品目):計3本

標準ジフテリアトキソイド:10本

標準沈降ジフテリアトキソイド:19本

参照沈降ジフテリアトキソイド(混合ワクチン用):56本

標準ジフテリア抗毒素:7本

参照ジフテリア抗毒素(フロキュラシオン用):43本

ジフテリア試験毒素(ウサギ試験用):1本

ジフテリア試験毒素(モルモット試験用):9本

ジフテリア試験毒素(培養細胞法用):13本

シック試験毒素(動物用):7本

標準破傷風トキソイド:4本

標準沈降破傷風トキソイド:27本

参照破傷風トキソイド(混合ワクチン用):18本

標準破傷風抗毒素:4本

標準抗破傷風ヒト免疫グロブリン:5本

参照破傷風抗毒素(フロキュラシオン用):42本

破傷風試験毒素:16本

はぶ試験毒素(出血I):3本

はぶ試験毒素（出血Ⅱ）：3本
 はぶ試験毒素（致死）：23本
 標準まむし抗毒素：8本
 まむし試験毒素（出血）：3本
 まむし試験毒素（致死）：8本
 標準ボツリヌスA型抗毒素：4本
 標準ボツリヌスB型抗毒素：1本
 標準ボツリヌスE型抗毒素：1本
 標準ボツリヌスF型抗毒素：1本
 標準百日せきワクチン：53本
 参照百日せきワクチン（毒性試験用）：72本
 マウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチン：15箱（180本）
 標準精製ツベルクリン：30本
 BCG Tokyo172-1：12本

（2）分与実績

ア）標準ジフテリア抗毒素、ジフテリア試験毒素（培養細胞法用）及びVERO細胞：愛知県衛生研究所、愛媛県立衛生環境研究所、岡山県環境保健センター、千葉県衛生研究所、東京都健康安全研究センター、栃木県保健環境センター、福井県衛生環境研究センター、福岡県保健環境研究所、北海道立衛生研究所：計7本、計7本及び計7本 [小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀]

イ）ジフテリア抗毒素（エレクト用）：宮城県保健環境センター：1本 [小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀]

ウ）*Corynebacterium diphtheriae* PW8 及び *Corynebacterium ulcerans*（ジフテリア毒素産生株）：大分県衛生環境研究センター、大阪府立大学大学院、岡山県環境保健センター、群馬県衛生環境研究所、栃木県保健環境センター、富山県衛生研究所、宮城県保健環境センター：計7本及び計7本 [小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀]

6. 依頼試験等の実績

（1）ジフテリア関係

ア）平成20年5月2日付けで、獨協医科大学病院（埼玉県）からジフテリアの疑患者の咽頭スワブ、気管内吸引物、血清2本（平成20年4月16日採血、平成20年4月30日採血）の同定検査依頼を受けた。検査の結果、*Corynebacterium striatum* が分離された。ジフテリア毒素及び毒素遺伝子は陰性であった。血中ジフテリア抗毒素価は、4月16日が1.0 IU/ml、4月30日が1.2 IU/mlで、抗毒素価に有意な変動はみられなかった。[小宮貴子、岩城正昭、見理剛、山本明彦、高橋元秀]

イ）平成20年12月19日付けで、福岡県保健環境研究所（福岡県）からジフテリアの疑患者の喀痰、血清1本及び分離菌株の同定検査依頼を受けた。検査の結果、*Corynebacterium striatum* が分離された。ジフテリア毒素及び毒素遺伝子は陰性であった。血中ジフテリア抗毒素価は0.0121 IU/mlであった。[小宮貴子、岩城正昭、見理剛、山本明彦、高橋元秀]

ウ）平成21年2月12日付けで、東京医科歯科大学医学部付属病院から、ジフテリアの疑患者からの咽頭スワブ、偽膜、血清1本の同定検査依頼を受けた。検査の結果、受理した菌株は、ジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* が分離された。血中ジフテリア抗毒素価は、検出限界以下であった。患者が飼育しているネコが、患者発症前に風邪様症状（くしゃみ、鼻水）があったという情報を得たので、ネコと仔ネコを検査した。更に、患者と同じ菌が分離されたので、PFGE解析を行った。3つの菌株は、全て同じ遺伝子タイプであったことから、ネコからの感染が強く疑われた。[小宮貴子、岩城正昭、見理剛、山本明彦、高橋元秀]

（2）破傷風関係

ア）平成20年5月9日付けで、大津赤十字病院から患者創部より分離された菌の同定の依頼を受けた。患者創部より検出された菌について、その培養上清はマウスを用いた毒素原性試験により破傷風毒素を検出した。更に破傷風毒素特異的 primer を用いた遺伝子検査によって破傷風毒素遺伝子が検出された。同分離菌は、偏性嫌気性を示し、固形培地上での遊走能を確認し、破傷風菌と同定した。[山本明彦、岩城正昭、見理剛、高橋元秀]

イ）平成21年2月16日付けで、山口赤十字病院より患者血清の破傷風毒素の検出と、患者創部膿からの菌検出について依頼を受けた。患者血清中の破傷風毒素はマウスを用いた毒素原性試験の検出限界以下であった。一方、患者創部組織の培養菌液には破傷風菌は検出されなかった。[山本明彦、岩城正昭、見理剛、高橋元秀]

国際協力関係業務

I. WHO 関連

1. インドネシア、ジャカルタにおける蛇毒抗毒素に関するWHOワークショップに参加し、蛇毒抗毒素の製造と品質管理についての国際的なガイドライン作成について協議した（2008年5月）。[高橋元秀]

2. 台湾CDCの抗毒素製造の責任者であるDr. Lianを訪問し、台湾における毒蛇抗毒素製剤の製造法を実地見学

すると共に、平成 20 年 WHO で検討されている毒蛇抗毒素製剤に関する WHO ガイドライン原案について、日本での製造方法と比較検討した（2008 年 10 月）。[山本明彦]

II. JICA 関連

1. 薬剤耐性病原体の実験室診断コース参加の海外研修生に VRE、*Clostridium difficile*、β-ラクタマーゼ産生菌、16S rRNA メチラーゼ産生菌、耐性菌アウトブレイクにおける疫学的対応に関する講義を行った（2009 年 2 月）。[加藤はる、山根一和、鈴木里和、和知野純一、荒川宜親]

2. 生物製剤の無菌性についての研修（2008 年 11 月）。[佐々木裕子]

3. ワクチン品質管理技術コース参加の研修生（海外 5 名）にワクチンの品質管理について講義した（2008 年 11 月）。[高橋元秀、岩城正昭、蒲地一成、荒川宜親]

III. 海外局方関連

1. マウスヒスタミン増感試験に関する European Directorate for the Quality of Medicine & Health Care (EDQM) による国際共同研究：EP 百日咳毒素標準品 (BRP batch 1) の百日咳毒素 WHO 国際標準品ロット 1 (JNIH-5) に対する相対力価を求める国際共同研究依頼が EDQM よりなされ、マウスヒスタミン増感試験を実施した。参加 10 施設中ヒスタミン増感死エンドポイントアッセイに加え体温法を実施したのは感染研を含め 3 施設であり、両試験法に相関が認められた。[持田恵子、福田靖、落合雅樹、鰐坂裕美、蒲地一成]

IV. 研修・講義関連

1. Dr. Na-Ri Shin (Korea, CDC) に、ボツリヌス抗毒素製剤の力価試験法の研修を約 2 週間行った（2008 年 4 月）。[見理 剛、山本明彦、高橋元秀]

2. 米国フィラデルフィアで開催された Interagency Botulism Research Coordinating Committee に参加し、また、同時に開催された世界健康安全保障イニシアティブ (Global Health Security Initiative: GHSI) の実務レベルの行動グループ（危機管理専門調査委員会：Global Health Security Action Group）におけるボツリヌス専門家会議 (WG) にも出席した（2008 年 9 月）。[高橋元秀、見理 剛]

3. キプロス共和国ラルナカ市で行なわれたジフテリア国際ネットワーク DIPNET の 2008 年ミーティングに出席し、日本における飼育ライオン及びビシャチの *Corynebacterium ulcerans* 感染症について紹介するとともに海外のジフテリア及びコリネバクテリウム・ウルセランス感染症に関する最新の情報を収集した。[岩城正昭]

研修業務

I. 薬剤耐性菌に関する研修

1. 実地疫学専門家養成プログラム (FETP) への分子疫学実習：薬剤耐性菌による院内感染事例の調査時に行う分子疫学的解析の結果の解釈に必要な臨床微生物・分子生物学の基本的な知識の習得を目的とし、FETP 研修生に対し 1 週間の実習コースを実施（2 回、計 5 名が受講）した。[鈴木里和、筒井敦子]

II. *Clostridium difficile* に関する研修

1. 検査技師を対象として、依頼に応じて *Clostridium difficile* 分離培養、PCR、LAMP による毒素遺伝子の検出を中心とした *C. difficile* の細菌学的検査の実技研修を行った。[加藤はる]

III. ジフテリアに関する研修

1. 平成 20 年度ジフテリア流行予測事業のため、ジフテリア抗毒素価測定法（培養細胞法）の技術講習会を開催した（感染研：2008 年 4 月）。[小宮貴子]

IV. 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について講義した（埼玉県：2008 年 7 月）。[高橋元秀]

その他

I. 行政科学に対する対応

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及び標準品委員会に出席し、第 15 改正日本薬局方（追補を含む）及び第 16 改正日本薬局方の改正案及び収載案の審議に従事した。[近田俊文]

2. 動物用生物学的製剤調査会に関する活動：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。[高橋元秀]

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：検査診断や院内感染対策等に関する事項を中心に、E-mail や電話等による質問、相談に個別に対応し、回答を行った。[荒川宜親、第一室]

2. *Clostridium difficile* 感染症についての対応：検査診断や施設内感染に関する事項を中心に、E-mail や電話等による質問、相談に個別に回答した。[加藤はる]

3. 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記載された抗生物質医薬品（標準品を含む）の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]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Yamane K., Wachino J., Suzuki S., Arakawa Y.: Plasmid-mediated *qepA* gene among *Escherichia coli* clinical isolate from Japan. *Antimicrob Agents Chemother*, 52: 1564-1566, 2008.
- 2) Suzuki S., Shibata N., Yamane K., Wachino J., Ito K., Arakawa Y.: Change in the prevalence of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. *J Antimicrob Chemother*, 63: 72-79, 2009.
- 3) Nagano N., S. Isomine, H. Kato, Y. Sasaki, M. Takahashi, K. Sakaida, Y. Nagano, Y. Arakawa: Human fulminant gas gangrene caused by *Clostridium chauvoei*. *J Clin Microbiol*, 46(4): 1545-1547, 2008.
- 4) Hata A., Honda Y., Asada K., Sasaki Y., Kenri T., Hata D.: *Mycoplasma hominis* meningitis in a neonate: case report and review. *J Infect*, 57: 338-343, 2008.
- 5) Nagano N., Nagano Y., Kimura K., Tamai K., Yanagisawa H., Arakawa Y.: Genetic heterogeneity in *pbp* genes among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*, 52: 4258-4267, 2008.
- 6) Kimura K., Suzuki S., Wachino J., Kurokawa H., Yamane K., Shibata N., Nagano N., Kato H., Shibayama K., Arakawa Y.: First Molecular Characterization of Group B Streptococci with Reduced Penicillin Susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*, 52: 2890-2897, 2008.
- 7) Kato H., Kato H., Iwashima Y., Nakamura M., Nakamura A., Ueda R.: Inappropriate use of loperamide worsens *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. *J Hosp Infect*, 70: 194-195, 2008.
- 8) Piao Z., Shibayama K., Mori S., Wachino J., Arakawa Y.: A novel insertion sequence, IS1642, of *Mycobacterium avium*, which forms long direct repeats of variable length. *FEMS Microbiol Lett*, 291: 216-221, 2009.
- 9) Psakis G., Saidijam M., Shibayama K., Polaczek J., Bettaney K., Baldwin J., Baldwin S., Hope R., Essen L-O., Essenberg R., Henderson P.: The Sodium-dependent D-glucose Transport Protein of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol*, 71: 391-403, 2009.
- 10) Katsukawa C., Kawahara R., Inoue K., Ishii A., Yamagishi H., Kida K., Nishino S., Nagahama S., Komiya T., Iwaki M., Takahashi M.: Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* Isolated from the Domestic Dog for the First Time in Japan. *Jpn J Infect Dis*, 62(2): 171-172, 2009.
- 11) Maeyama J., Komiya T., Takahashi M., Isaka M., Goto N., Yamamoto S.: The mucosal adjuvanticity of the oligodeoxynucleotides containing a non-methylated CpG motif on BCG and diphtheria toxoid. *Vaccine*, 27(8): 1166-73, 2009.
- 12) Seto Y., Komiya T., Iwaki M., Kohda T., Mukamoto M., Takahashi M., Kozaki S.: Properties of coryneophage attachment site and molecular epidemiology of *Corynebacterium ulcerans* isolated from humans and animals in Japan. *Jpn J Infect Dis*, 61(2): 116-22, 2008.
- 13) Shirokawa M., Shibuya Y., Mitsusada M., Yamamoto A., Iwaki M.: Tetanus Case Isolating *Clostridium tetani* from Scab. *J Jap Asso Acu Med*, 19: 279-282, 2008.
- 14) Liu JH., Deng YT., Zeng ZL., Gao JH., Chen L., Arakawa Y., Chen ZL.: Coprevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *QepA*, *Qnr*, and *AAC(6')-Ib-cr* among 16S rRNA methylase *RmtB*-producing *Escherichia coli* isolates from pigs. *Antimicrob Agents Chemother*, 52: 2992-2993, 2008.
- 15) Park YJ., Yu JK., Kim SI., Lee K., Arakawa Y.: Accumulation of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes, *qepA* and *qnrS1*, in *Enterobacter aerogenes* co-producing *RmtB* and class A β -lactamase LAP-1. *Ann Clin Lab Sci*, 39: 55-59, 2009.
- 16) Takahashi H., Miya S., Kimura B., Yamane K., Arakawa Y., Fujii T.: Difference of genotypic and phenotypic

characteristics and pathogenicity potential of *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* between clinical and environmental isolates from Japan. *Microb Pathog*, 45: 150-158, 2008.

17) Nagano Y., Nagano N., Wachino J., Ishikawa K., Arakawa Y.: Novel chimeric β -lactamase CTX-M-64, a hybrid of CTX-M-15-like and CTX-M-14 β -lactamases, found in a *Shigella sonnei* strain resistant to various oxyimino-cephalosporins, including ceftazidime. *Antimicrob Agents Chemother*, 53: 69-74, 2009.

18) Hironaga M., Yamane K., Inaba M., Haga Y., Arakawa Y.: Characterization and antimicrobial susceptibility of *Dysgonomonas capnocytophagoides* isolated from human blood sample. *Jpn J Infect Dis*, 61: 212-213, 2008.

19) Doi Y., Wachino J., Arakawa Y.: Nomenclature of plasmid-mediated 16S rRNA methylases responsible for panaminoglycoside resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 52: 2287-2288, 2008.

2. 和文発表

1) 近田俊文: 微生物学的力価試験法, 抗生物質医薬品の力価試験. 「新 GMP 微生物試験法」佐々木次雄、棚元憲一、川村邦夫編, じほう, 306-320, 2008.

2) 加藤はる: *Clostridium difficile* BI/NAP1/027 菌株と引き起こされる感染症. *臨床と微生物*, 35: 315-320, 2008.

3) 加藤はる: クロストリジウム・ディフィシル感染症と感染対策. *HosCom*, 6(1): 1-5, 2009.

4) 村端真由美、加藤はる、矢野久子、小椋正道、柴山順子、脇本幸夫、荒川宜親、溝上雅史: 長期入院がん患児における *Clostridium difficile* 消化管保有と院内伝播に関する検討. *日本感染症学雑誌*, 82(5): 419-425, 2008.

5) 木村幸司、荒川宜親: ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌. *小児感染免疫*, 20(3): 312-316, 2008.

6) 木村幸司、荒川宜親: ペニシリン低感受性 group B streptococcus. *感染炎症免疫*, 38-3, 83-86, 2008.

7) 堀野敦子: 8-3(18) 類鼻疽菌. 「バイオセーフティの事典」, 医学評論社, 210-212, 2008.

8) 高橋元秀: 細菌毒素製剤/トキシノイド製剤の力価試験. 「新 GMP 微生物試験法」佐々木次雄、棚元憲一、川村邦夫編, じほう, 320-328, 2008.

9) 岩城正昭、高橋元秀: ジフテリアの予防. 「総合臨床・新版処方計画」第 57 巻, 永井書店, 327-328, 2008.

10) 蒲地一成, 岡田賢司: ワクチンで予防可能な疾患の病原診断とその読み方 6, 百日咳. *小児科*, 50: 35-41, 2009.

11) 蒲地一成: 微生物の基礎知識, 百日咳. *感染と消毒*, 15: 91-94, 2008.

12) 蒲地一成: 感染制御のための微生物学講座, 百日咳. *感染制御*, 4(3): 255-258, 2008.

13) 蒲地一成: 成人の百日咳、現状と対策, *World Focus*. バイオメディカルサイエンス研究会, No.109, 2008.

14) 蒲地一成: 百日咳菌. 「バイオセーフティの辞典」, みみずく舎, 166-168, 2008.

15) 持田恵子, 蒲地一成: 百日咳ワクチン. *感染制御*, 4(6): 535-538, 2008.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Yamane K., Doi Y., Adams-Haduch JM., Potoski BA., Paterson DL.: Rising Fluoroquinolone Resistance in *Escherichia coli* Bloodstream Isolates: Local Explanations for a National Trend. 48th ICAAC/46th IDSA, October, 2008, Washington DC, USA.

2) Yamane K., Suzuki S., Tsutsui A., Wachino J., Shibata N., Kimura K., Arakawa Y.: Multi-Institutional Dissemination of VanA-Type Enterococcus faecium with VanB Phenotype. 48th ICAAC/46th IDSA, October, 2008, Washington DC, USA.

3) Suzuki S., Shibata N., Yamane K., Wachino J., Arakawa Y.: A Nationwide Shift in Prevalence of Extended-Spectrum β -lactamases Producing *Escherichia coli* through a Spread of Clonal Strains. 48th ICAAC/46th IDSA, October, 2008, Washington DC, USA.

4) Sasaki Y., Kawakami T., Horino A., Kenri T., Arakawa Y., Sasaki T.: Profiling of the major proteins of *Mycoplasma pneumoniae* strains by two-dimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry. 17th Congress of International Organization of Mycoplasmology (IOM), July, 2008, Tianjin, China.

5) Kimura K., Wachino J., Kurokawa H., Suzuki S., Yamane K., Shibata N., Arakawa Y.: Practical disk diffusion tests for detecting group B streptococcus with reduced penicillin susceptibility. 48th ICAAC/46th IDSA, October, 2008, Washington DC, USA.

6) Horiuchi Y., Kataoka M., Yamamoto A., Ochiai M., Harashima A., Nagata N., Hasegawa H., Kurata T.: The success story of Japanese DTaP control and a further development of vaccine evaluation, 2nd World Conference on (Ehrlich II), October, 2008 Nürnberg, Germany.

7) Seto Y., Komiya T., Iwaki M., Arakawa Y., Kozaki S.,

Takahashi M.: Toxigenic and nontoxigenic *C. ulcerans* isolated from two killer whales and a lion in a zoological park in Japan. Tenth ELWGD & Second Annual Meeting of Diphtheria Surveillance Network (DIPNET), November 2008, Larnaca (Cyprus).

8) Nakane D., Kenri T., Miyata M.: High-resolution quick imaging of cytoskeletal architectures of *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma gallisepticum* using conventional electron microscopy. The 17th International Congress of International Organization for Mycoplasmology, July, 2008, Tianjin, China.

9) Kenri T., Iwaki M., Yamamoto A., Takahashi M.: Recent Infant Botulism Cases Reported in Japan Between 2006 and 2007. 45th Annual Interagency Botulism Research Coordinating Committee (IBRCC) Meeting, September, 2008, Philadelphia, PA, USA.

10) Kenri T., Horino A., Kubota M., Sasaki Y., Nakane D., Miyata M.: Systematic detection of proteins that localize at the attachment organelle regions of *Mycoplasma pneumoniae* by fluorescent-protein tagging. BLAST X (Bacterial Locomotion and Signal Transduction), January, 2009, Cuernavaca, Mexico.

2. 国内学会

- 1) 山根一和 : JANIS について・経緯及びシステム概要. 第 24 回環境感染学会総会, 横浜, 2009 年 2 月.
- 2) 山根一和、鈴木里和、荒川宜親 : 埼玉県内の医療機関等におけるバンコマイシン耐性腸球菌の保菌状況調査. 第 37 回薬剤耐性菌研究会, 渋川, 2008 年 9 月.
- 3) 加藤はる、荒川宜親 : *Clostridium difficile* BI/NAP1/027 株の PCR による同定. 第 82 回日本感染症学会総会, 島根, 2008 年 4 月.
- 4) 岩島康仁、中村 敦、加藤秀章、和田順子、脇本幸夫、近藤優子、矢野久子、上田龍三、加藤はる : 名古屋市立大学病院における *Clostridium difficile* 関連下痢症 (CDAD) の臨床背景及び治療経過に関する考察. 第 82 回日本感染症学会総会, 島根, 2008 年 4 月.
- 5) 伊藤陽一郎、中村俊之、加藤はる : *Clostridium difficile* 施設内感染. 第 82 回日本感染症学会総会, 島根, 2008 年 4 月.
- 6) 加藤秀章、中村 敦、加藤はる : 当院における *Clostridium difficile* 関連下痢症の現状と悪化因子の検討. 第 82 回日本感染症学会総会, 島根, 2008 年 4 月.
- 7) 里村秀行、尾高郁子、酒井 力、佐藤洋子、加藤はる :

Clostridium difficile 関連下痢症多発病棟における臨床細菌学的検討及び院内感染対策の課題. 第 82 回日本感染症学会総会, 島根, 2008 年 4 月.

8) 齊木由美子、高野さかえ、常松典子、千葉正志、加藤はる : 当院で分離された *Clostridium difficile* 菌株の毒素産生パターンの検討. 第 57 回日本医学検査学会, 札幌, 2008 年 5 月.

9) 加藤はる : *Clostridium difficile* 感染症の細菌学的診断、治療、医療関連感染について. 第 48 回近畿医学検査学会, 神戸, 2008 年 10 月.

10) 里村秀行、尾高郁子、加藤はる : *Clostridium difficile* 菌株からの toxin 検出の検討. 第 20 回日本臨床微生物学会総会, 仙台, 2009 年 1 月.

11) 里村秀行、尾高郁子、大土由里子、佐藤万里、酒井 力、加藤はる : *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 菌株検出事例の検討. 第 24 回日本環境感染学会総会, 横浜, 2009 年 2 月.

12) 加藤はる、荒川宜親、岩島康仁、加藤秀章、中村 敦、赤羽貴行、里村秀行、酒井 力、伊藤陽一郎、齊木由美子 : 日本の医療機関で臨床分離された binary toxin 遺伝子陽性 *Clostridium difficile* 菌株について. 第 39 回日本嫌気性菌感染症研究会, 岐阜, 2009 年 3 月.

13) 大賀亜沙未、三浦雅史、根ガ山清、加藤はる、松下 治 : *Clostridium difficile* 感染対策への MLST 法の利用と改良. 第 82 回日本細菌学会総会, 名古屋, 2009 年 3 月.

14) 佐々木裕子、永田典代、網 康至、須崎百合子、松田和洋、荒川宜親 : *Mycoplasma fermentans* 生菌投与ウサギを用いた関節炎モデル開発と抗糖脂質抗体の解析. 第 82 回日本細菌学会総会, 名古屋, 2009 年 3 月.

15) 木村幸司、和知野純一、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親 : ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌に関する依頼解析. 第 82 回日本細菌学会, 名古屋, 2009 年 3 月.

16) 木村幸司 : Kirby-Bauer Disks 及び PCR 法によるペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌検出法の開発. 第 40 回日本小児感染症学会, 名古屋, 2008 年 11 月.

17) 木村幸司、黒川博史、柴田尚宏、荒川宜親 : Kirby-Bauer Disks 及び PCR 法によるペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌検出法の開発. 第 56 回日本化学療法学会総会, 岡山, 2008 年 6 月.

18) 木村幸司、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親 : Kirby-Bauer Disks 及び PCR 法によるペニシリン低感

受性 B 群連鎖球菌検出法の開発. 第 82 回日本感染症学会総会, 島根, 2008 年 4 月.

19) 長野則之、長野由紀子、木村幸司、玉井清子、柳沢英二、荒川宜親: ペニシリン非感受性 B 群レンサ球菌における PBP_s の変異の多様性. 第 82 回日本感染症学会総会, 島根, 2008 年 4 月.

20) 木村幸司、和知野純一、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親: ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌に関する依頼解析. 第 37 回薬剤耐性菌研究会, 群馬, 2008 年 9 月.

21) 岩城正昭、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀: ジフテリア菌 C7(-) 株は pathogenicity islands の大部分を欠くが病原性の兆候を残している. 第 81 回日本細菌学会総会, 京都, 2008 年 3 月.

22) 山本明彦、岩城正昭、見理 剛、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀: 国内土壌の破傷風菌分布調査. 第 82 回日本細菌学会総会, 名古屋, 2009 年 3 月.

23) 前山順一、小宮貴子、高橋元秀、井坂雅人徳、山本三郎: ジフテリアトキソイドに対する新規 A 型 CpG-DNA である G9.1 の粘膜アジュバント作用. 第 81 回日本細菌学会総会, 京都, 2008 年 3 月.

24) 中根大介、見理 剛、宮田真人: *Mycoplasma pneumoniae* の細胞骨格電子顕微鏡像の平均化と、構成タンパク質の特定. 第 81 回日本細菌学会総会, 京都, 2008 年 3 月.

25) 小宮貴子、岩城正昭、荒川宜親、高橋元秀、畑中章生、角田篤信: 目でみる感染症 参考症例: *Corynebacterium ulcerans* 感染症. 第 19 回日本臨床微生物学会総会, 東京, 2008 年 2 月.

26) 中根大介、アダン純、見理 剛、宮田真人: *Mycoplasma pneumoniae* 滑走の足、P1 adhesin タンパク質の精製と特徴づけ. 日本マイコプラズマ学会第 35 回学術集会, 東京, 2008 年 5 月.

27) 森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、朴 貞玉、荒川宜親: 結核菌由来の新規ヌクレオチド加水分解酵素に関する研究. 第 82 回日本細菌学会, 名古屋, 2009 年 3 月.

28) 和知野純一、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親: アミノグリコシド耐性を付与する 16S rRNA methyltransferase, NpmA の結晶化. 第 82 回日本細菌学会, 名古屋, 2009 年 3 月.

29) 柴山恵吾、和知野純一、森茂太郎、荒川宜親: *Helicobacter pylori* のアスパラギナーゼの生理病理的機能. 第 82 回日本細菌学会, 名古屋, 2009 年 3 月.

30) 森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、朴 貞玉、荒川宜親: 結核菌由来新規ヌクレオチド加水分解酵素の機能解

析.

日本農芸化学会 2009 年度大会, 2009 年 3 月.

31) 韓 賢子、蒲地一成、桑江朝臣、阿部章夫、荒川宜親: 百日咳菌タイプ III エフェクター BopC の IS481 による発現調節. 第 82 回日本細菌学会総会, 名古屋, 2009 年 3 月.

32) 蒲地一成、韓 賢子、豊泉裕美、荒川宜親: 百日咳菌の新規タイピング法の確立とその応用. 第 82 回日本細菌学会総会, 名古屋, 2009 年 3 月.

33) 蒲地一成: 百日咳毒素, 予防・診断・疫学への応用. 第 82 回日本感染症学会総会, 島根, 2008 年 4 月.

3. 講演・講義

1) 加藤はる: *Clostridium difficile* による院内感染. 1) そもそもどんな感染症なの? (入門) 2) 分離のポイントは何のあたり? (実技) 第 1 回食品感染症学 (エスアールエル) セミナー, 相模原市, 2008 年 7 月.

2) 加藤はる: *Clostridium difficile* 関連疾患へ世界と日本へ. 京都 *Clostridium difficile* 関連疾患講演会, 京都, 2008 年 10 月.

3) 加藤はる: *Clostridium difficile* 感染症は、どんな感染症? 第 7 回医療関連感染対策フォーラム in 八代. 八代市, 2008 年 12 月.

4) 加藤はる: 新興・再興感染症による院内感染と対策 - 新しい耐性菌、新しい病原菌による院内感染の対策 *Clostridium difficile* 感染対策 - 欧米から始まった新たな展開 - 第 81 回 ICD 講習会, 2009 年 3 月.