

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、厚生労働省医政局地域医療計画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。研究では、厚生労働行政上特に必要な課題を対象とし、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が多い。研究業務、レファレンス業務、品質管理業務を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。

H26年度は薬剤耐性菌を取り巻く状況に大きな動きがあった。西日本地域のある医療機関においてカルバペネム耐性腸内細菌科細菌による大規模な医療関連感染が発生していたことが明らかになり、さらに周辺地域への拡散も懸念された。厚生労働省医政局地域医療計画課、自治体、当該医療機関と協議の上、細菌第二部と病原体ゲノム解析研究センター、感染症疫学センターその他外部研究機関と合同で大規模な調査が実施された。このアウトブレイクではカルバペネム耐性遺伝子がプラスミドにより腸内細菌科細菌の様々な菌種に伝達され、拡散していたことが分かった。それまで医療関連感染によるアウトブレイクは同一の菌株が拡散することにより起こるとされていたが、我々はプラスミドの拡散によるアウトブレイクが医療現場で実際に起こっていることを初めて明らかにした。厚生労働省の課長通知においては、アウトブレイク疑う基準は単一の菌株が拡散することを念頭において作られていたため、この知見を厚生労働省に提供した。厚生労働省は院内感染対策中央会議を開催して、我々の情報をもとに薬剤耐性菌によるアウトブレイクを疑う基準を改訂した。そして厚生労働省からそれらに関する事務連絡、課長通知が発出され、注意喚起が行われた。なお社会においてはカルバペネム耐性腸内細菌科細菌による感染症の発生状況に関心が高まってきたことか

ら、H26年9月19日にカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症が感染症法の第5類全数把握対象感染症に新たに追加された。また同時に、薬剤耐性アシネトバクター感染症が第5類定点把握対象感染症から全数把握対象感染症に変更された。細菌第二部ではこれらの改定において厚生労働省へ科学的エビデンスを提供するとともに、届出基準の原案作成や関連学会との意見調整を行った。その他薬剤耐性菌研究では、J-GRIDとの連携プロジェクトが立ち上がり、大阪大学、神戸大学、国立国際医療研究センターと共同でタイ、ミャンマー、インド、インドネシア、ベトナムの拠点と共同研究が開始された。このプロジェクトでは薬剤耐性菌のゲノムデータベースの構築とJANISの海外展開を進めることになった。

行政検査では、ジフテリア、ボツリヌスや類鼻疽などの市中感染症の病原体のほか、薬剤耐性菌や *Clostridium difficile*、*Corynebacterium striatum* など医療関連感染に関する病原体の依頼も多く引き受けた。行政検査を実施した際には自治体と緊密に連携して公衆衛生対策の支援を行った。薬剤耐性菌による医療関連感染症ではさらにFETPとも連携して調査を実施し、感染症コントロールの支援を行った。

品質管理業務では、多くの製剤の国家検定、収去試験、依頼試験等を担当し、また多種類の標準品の製造や交付を行った。新規の Hib (ヒブ) ワクチン、10 価肺炎球菌ワクチン、狂犬病ワクチンの承認前試験も実施した。近年、品質管理業務においては SLP の導入や PIC/S 加盟、新規ワクチンの承認申請の増加、ジェネリックメーカーの製造の増加などにより業務量が非常に増加している。業務の合理化として一部の製剤で国家検定のエンドトキシン試験を廃止し、血液製剤の抜き取り検査で無菌試験を廃止するなどしたが全体としては業務が増加している。定員の確保と同時に今後業務のさらなる合理化が必要とされる。人事では H26 年 4 月 1 日に平松征洋が第五室に研究員として着任し、H26 年 10 月 1 日に筒井敦子が第一室に研究員として着任し、H27 年 3 月 31 日に山本明彦主任研究官が定年退官した。

業績

調査・研究

I. 薬剤耐性菌に関する研究

1. 薬剤耐性菌に関する菌株・検体等の解析依頼の概要
医療機関などから依頼を受けた菌株 184 株について、薬剤耐性菌の耐性遺伝子検査、菌種同定及び菌株タイピング解析を実施し、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、*Acinetobacter* spp. (11 株)、腸内細菌科細菌 (154 株)、緑膿菌 (10 株)、腸球菌 (1 株)、*Staphylococcus* spp. (8 株) であった。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。なお、行政検査として依頼を受けたものは除く。

[松井真理、鈴木仁人、鈴木里和、筒井敦子、甲斐久美子、鯉坂裕美、瀧世志江、村山詠美、柴山恵吾]

2. 薬剤耐性菌のプラスミド解析手法の検討

薬剤耐性グラム陰性桿菌を対象としたプラスミドデータベース構築を目的に、今年度はプラスミド塩基配列をハイスループットで解析するための効率的な手法を検討した。DNA プラグを S1 スクレアーゼ処理後、パルスフィールドゲル電気泳動法で展開し (S1-PFGE)、SYBR Gold 染色、青色 LED 照射下でプラスミド DNA を回収することで良好なデータが得られた。約 800 プラスミドの配列解析を実施した。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、瀬川孝耶、甲斐久美子、瀧世志江、鯉坂裕美、柴山恵吾、(以下 病原体ゲノム解析研究センター) 関塚剛史、山下明史、黒田誠]

3. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の院内感染事例の解析

関西地区の医療機関で、IMP 型メタロ-β-ラクタマーゼ (MBL) 遺伝子を保有するカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) の大規模な院内感染事例が報告された。*Escherichia coli*、*Klebsiella* 属、*Enterobacter* 属、*Citrobacter* 属など複数の菌種が分離されたが、プラスミド塩基配列解析により、多くの株が *bla*_{IMP-6} を含む約 50kb の IncN プラスミド配列を共通に有することを明らかにした。同一菌株の伝播だけでなく、プラスミドの水平伝達による耐性菌の広がりが見られた。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、瀬川孝耶、甲斐久美子、瀧世志江、鯉坂裕美、柴山恵吾、(以下 病原体ゲノム解析研究センター) 関塚剛史、山下明史、黒田誠]

4. 関西地区の中核病院周辺医療機関より分離されたカ

ルバペネム耐性腸内細菌科細菌のプラスミド解析

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) の院内感染が発生した病院の周辺医療機関において同様の耐性菌の拡散が懸念されたため、周辺の 9 医療機関で分離された 28 株由来 29 プラスミドの解析を実施した。院内感染が発生した医療機関分離株と相同性の高いプラスミドが確認できたものの、疫学関連が無い株同士でも比較的類似した配列を有していることもあった。疫学調査に活用可能となるプラスミド解析の手法については今後も更なる検討が必要と思われた。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、筒井敦子、甲斐久美子、瀧世志江、鯉坂裕美、柴山恵吾、(以下 病原体ゲノム解析研究センター) 関塚剛史、山下明史、黒田誠]

5. 黄色ブドウ球菌のダプトマイシン耐性機構の解析

我が国の医療機関で分離されたダプトマイシン非感性 MRSA 株の遺伝子変異を調べる目的で、HiSeq 2500 による全ゲノム解析を行った。ダプトマイシン非感性の黄色ブドウ球菌では、しばしばリジルホスファチルグリセロール合成酵素をコードする *mprF* 遺伝子にアミノ酸変異を生じる SNP が存在することが報告されている。本研究で解析を行った MRSA 2 株の *mprF* 遺伝子には、それぞれ異なるアミノ酸変異を生じる SNP が存在した。一つは既に報告されている種類のアミノ変異 (S337L) を生む SNP であったが、もう一つは新規のアミノ変異を生む SNP であった。[鈴木仁人、鈴木里和、松井真理、甲斐久美子、瀧世志江、鯉坂裕美、柴山恵吾]

6. 薬剤耐性菌研究における J-GRID 海外研究拠点との連携

日本医療研究開発機構 感染症研究国際展開戦略プログラム (J-GRID) の大阪大学感染症国際研究拠点 日本・タイ感染症共同研究センター (RCC-ERI) が収集したタイ王国の医療機関で分離されたカルバペネム耐性 *Klebsiella pneumoniae* の解析を行った。S1 スクレアーゼを用いた PFGE から分離したプラスミド DNA の MiSeq による配列解析、および全ゲノム DNA の PacBio RSII による配列解析により、NDM 型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子を保有する多様なプラスミドの存在が明らかとなった。[鈴木仁人、松井真理、鈴木里和、甲斐久美子、瀧世志江、鯉坂裕美、柴山恵吾、(以下 病原体ゲノム解析研究センター) 関塚剛史、山下明史、黒田誠]

7. イミペネム感性的カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌における Carba NP test の評価

近年、イミペネムを基質とするカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌(CPE)検出法 Carba NP test が開発され、CLSI2015 に記載された。一方、本邦で多く分離されるCPEであるIMP-6メタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)産生菌はメロペネムには耐性となるもののイミペネムには感性である。国内分離株を用いて本法を検討したところ、IMP-6 MBL 産生株も検出可能であり、Carba NP test が我が国でも有用であることが示唆された。[瀬川孝耶、松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾]

II. 鼻疽菌・類鼻疽菌に関する研究

1. *Burkholderia pseudomallei* の血清診断法の検討

これまでに *B. pseudomallei* の血清診断法は国内では確立されていない。そこで血清診断法の確立を目的として、*B. pseudomallei* や、ヒトから分離される可能性のある *B. mallei*, *B. thailandensis*, *B. cepacia* を用いて検討を行っている。今年度は、メリオイドーシス患者血清を用いて *B. pseudomallei* に特異的なタンパクを検索し、その候補を得た。[堀野敦子]

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. 成人由来非侵襲性インフルエンザ菌の解析

新潟県の老健施設および東京都の医療センターで分離されたキノロン系薬剤耐性菌について解析を行なった。その結果、*Haemophilus influenzae* として分離された菌の1株が近縁種の *Haemophilus haemolyticus* であった。QRDRの解析では、新たな変異箇所が認められた。[久保田眞由美、見理 剛]

2. 小児の侵襲性インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) 感染症患者から分離される *H. influenzae* の解析

全国9県を対象とし、小児の侵襲性インフルエンザ菌感染症患者の髄液、血液から分離された *H. influenzae* の莢膜型解析ならびに薬剤感受性試験を実施した。*H. influenzae* 莢膜 b 型株(Hib)に対するワクチンの定期接種実施後の分離株は、Non-typable *H. influenzae* (NTHi)の分離が大半を占め、非 b 型莢膜型株の分離報告は無かった。(厚生労働科学研究：新興・再興感染症研究事業) [佐々木裕子、増田まり子、久保田眞由美、見理 剛、柴山恵吾]

3. 髄膜炎症例の髄液中の細菌遺伝子の網羅的検出法の検討

平成 25 年度の感染症法改正でインフルエンザ菌等の主要な起因種による細菌性髄膜炎が別枠となり、他の細菌性髄膜炎起因菌の同定が次の課題となっている。髄膜炎症例由来の細菌培養陰性髄液を対象とし、髄液中の細菌遺伝子の網羅的解析を実施した。髄液抽出 DNA を鋳型に 16S rRNA 遺伝子 V3-V4 領域を増幅後、増幅産物を MiSeq で解読し、2 個のデータベースで BLAST 検索を行い髄膜炎起因菌属の有無を検討した。特定の菌種については、realtime-PCR による解析を併用し、検出系の評価に用いた。(厚生労働科学研究：新興・再興感染症研究事業) [佐々木裕子、柴山恵吾]

IV. *Clostridium difficile* 感染症に関する研究

1. 日本の *Clostridium difficile* 感染症(CDI)疫学研究

15 医療機関における疫学調査本試験を開始した。各施設で下痢症例から採取された検体を国立感染症研究所で収集し、分離培養等の解析を行った。[妹尾充敏、福田靖、加藤はる]

2. *Clostridium difficile* 遺伝子検出試薬開発に関する研究
Clostridium difficile 分離菌株における毒素遺伝子検出用試薬のキット化について検討した。[福田靖、妹尾充敏、加藤はる]

3. ベトナムにおける *Clostridium difficile* 感染症(CDI)の疫学調査

ハノイ National Institute of Hygiene and Epidemiology (NIHE)において *C. difficile* のタイピングの施行を軌道にのせるために、NIHE 研究者の Vu Thi Thu Huong が来日し講習会に参加した。また、ハノイ市内4病院入院 *C. difficile* 感染症患者から分離された *C. difficile* 菌株が国立感染症研究所へ送付され、解析が開始された。[妹尾充敏、福田靖、加藤はる、柴山恵吾、Vu Thi Thu Huong(NIHE, Vietnam)]

4. 毒素非産生性 *Clostridium difficile* 膜画分を用いた定着因子ワクチンの開発

C. difficile の腸管への定着を阻害するワクチンとして、毒素非産生性 *C. difficile* の膜画分(nontoxigenic *C. difficile* membrane fraction; ntCDMF)を調製し、0 日目、14 日目、28 日目にマウスに投与し、42 日目に血液と腸管を採取した。血清中の抗 ntCDMF IgG と腸液中の抗 ntCDMF IgA の力価を測定したところ、ntCDMF は免疫原として有用であることが示された。また、これらの血清や腸液は *C.*

difficile のヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞への付着を有意に妨げることが示された。この阻害効果は免疫原に用いた毒素非産生性 *C. difficile* に対してのみではなく、毒素産生性 *C. difficile* にも同様の効果があった。[妹尾充敏、加藤はる、福田靖]

V. マイコプラズマに関する研究

1. 肺炎マイコプラズマ (*M. pneumoniae*) の菌株間の違いを詳細に調べるために、臨床分離株 16 株のゲノム解析を行った。[関塚剛史、黒田 誠、見理 剛、堀野敦子、柴山恵吾、大屋日登美 (神奈川県衛生研究所)、中嶋 洋 (岡山県環境保健センター)、藤井寛之、橋本 徹 (倉敷中央病院)]

2. マイコプラズマ肺炎と *Mycoplasma pneumoniae* pl 遺伝子型との関連性について

本年度は北海道大学との共同研究として、流行終息後の 2013 年の検体を用いて *M. pneumoniae* の pl 遺伝子型別を行った。その結果、北海道全域で集計した場合は他県と同様に Subtype 1 が優位であったが、道内での地域差が大きかった。Subtype 1 が全く検出されない地域では、他県で数年にわたって検出されない Subtype 2 が検出された。同時期に地域による型別の偏りがここまで顕著に示されたことはこれまでになく、今後は地域流行との関係を含めてさらに検討を行う予定である。[堀野敦子、松井珠乃、石黒信久 (北海道大学)]

3. *Mycoplasma pneumoniae* の検体輸送について

M. pneumoniae は死滅しやすく、臨床検体の保存・輸送が難しいとされてきた。今回は北海道大学で検体採取後の輸送培地を -80℃ に保管しておき、ドライアイス詰め陸送で 3 日かけて感染研まで輸送を行った。その結果、菌体の分離率は 98% と良好であり、*M. pneumoniae* の菌株分離を行うにあたっては、収集地で凍結保存を行っておけば検体採取の度に輸送を行う必要が無く、効率的に分離・検出を行えることが明らかとなった。[堀野敦子、松井珠乃、石黒信久 (北海道大学)]

VI. ボツリヌス菌、ボツリヌス毒素に関する研究

1. ボツリヌス症の治療には、現在ウマ由来のボツリヌス毒素製剤が用いられているが、異種血清由来製剤投与による副反応が危惧される。そこでヒト型モノクローナル抗体製剤の開発を目指すため、ボツリヌストキソイド接種者より B 型ボツリヌス毒素に対するモノクローナル抗体を作成した。その効力をマウスでの中和試験で測定し

た。[山本明彦、岩城正昭、松村拓大、藤永由佳子 (阪大微研)]

VII. ジフテリアおよび類似疾患に関する研究

1. ジフテリアと類似の毒素を産生し、同様の症状を呈す *Corynebacterium ulcerans* (*C. ulcerans*) 感染症の国内 14 症例目の患者調査を行った。患者は徳島県在住の 6 歳の女児で、左耳下腺部に直径 9mm の膿瘍が検知されジフテリア毒素産生性の *C. ulcerans* が分離された。この症例は DPT ワクチン接種歴を有し、皮膚炎の猫を飼育していた。[小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、寺田知正、小山絵里子 (徳島県立中央病院、県立保健製薬環境センター)]

2. ジフテリア毒素産生菌である *Corynebacterium ulcerans*、*Corynebacterium pseudotuberculosis* 及び *Corynebacterium diphtheriae* の鑑別診断のためのマルチプレックス PCR 法の開発に着手した。4 組の primer pair を選択し候補として検出感度と特異性を 5 地衛研とともに調べた。4 種類を組み合わせたマルチプレックス PCR を行うと非特異遺伝子の増幅が認められ、候補 primer の再考が必要な結果となった。[山本明彦、岩城正昭、梅田薫 (大阪市立環境科学研究所) 畠山薫 (東京都健康安全研究センター)、本間幸子 (川崎市健康安全研究所)、有塚真弓 (香川県環境保健センター)、古川一郎 (神奈川県衛生研究所)]

VIII. 結核等抗酸菌に関する研究

1. 結核菌由来キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ (MtQAPRTase) とピラジナミドの共結晶化 MtQAPRTase とピラジナミドとの詳細な結合様式を明らかにすることを目的として、共結晶化条件の検討を行った。[金玄、森茂太郎、柴山恵吾]

2. 結核菌由来 DNA ジャイレース (GyrA) の変異とキノロン耐性との関連

キノロン耐性結核菌株において、gyrA 遺伝子のキノロン耐性決定領域外に新たな変異 (A74S) が見出されている。さらに、この変異を持つ株は D94G の変異も併せ持つことが示されている。これらの変異とキノロン耐性との関連を明らかにすることを目的として、野生型と変異型の GyrA タンパク質について、酵素活性やキノロン阻害活性の測定を行った。さらに、野生型 GyrA タンパク質とキノロンとの共結晶化条件の検討を行った。[金玄、森

茂太郎、柴山恵吾、中島千絵（北海道大学）、鈴木定彦（北海道大学）]

3. イソニアジド耐性結核菌のゲノム解析

台湾で分離されたイソニアジド耐性結核菌 11 株について、次世代シーケンサーを用いてゲノム解析を行った。その結果、*katG* 遺伝子上に 5 種類、*ndh* 遺伝子上に 1 種類の新しい遺伝子変異を見出した。これらの遺伝子変異はイソニアジド耐性に関わっていると考えられた。[森茂太郎、柴山恵吾]

4. イソニアジド耐性結核菌から新たに見つけられた *katG* 遺伝子上の変異に関する研究

イソニアジド耐性結核菌から新たに見つけられた *katG* 遺伝子上の変異とイソニアジド耐性との関係を明らかにすることを目的として、野生型及び変異型の KatG タンパク質の発現及び精製条件を決定した。今後、詳細な機能解析を行う予定である。[金玄、森茂太郎、柴山恵吾]

5. 結核菌のヌクレオチド代謝を標的とした新規抗結核薬の開発

結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素の立体構造情報に基づいて、本酵素に特異的な新規阻害剤をデザインした。さらに、見出した新規阻害剤が結核菌に対して抗菌活性を示す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* の薬剤耐性機構に関する研究

キノロン耐性について、変異導入実験を行い、*H. cinaedi* は GyrA の T84I 変異により耐性化し、GyrA の 88 位や GyrB の 423 位の変異が加わることで高度耐性化することを明らかにした。また、マクロライド耐性については 23SrRNA の A2018G 変異が寄与していることを明らかにした。[林原絵美子、柴山恵吾]

2. *Helicobacter cinaedi* の病原性に関する研究

腸管上皮系細胞株である Caco-2 および HT-29、単球系血液細胞株である U937 および THP-1 を用いた *H. cinaedi* の *in vitro* の感染実験を行い、一部の細胞で細胞増殖阻害活性、IL-8 発現誘導を確認した。[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 *fimbriae* (Fim) 発現・産生機構に関する研究
百日咳菌の線毛(Fim)をコードする遺伝子 *fim2*, *fim3* は、2成分制御系 BvgAS および各遺伝子のプロモーター配列 (Pfim) により発現制御を受けている。Pfim には C が連続した特徴的な poly(C)配列が存在し、poly(C)長が遺伝子発現の ON/OFF に影響を与えている。本研究で Pfim poly(C)構造は、生育培地の組成等に影響を受けず比較的安定であることが判明した。また、*fim2* 遺伝子は Bvg+環境下で発現が上昇する virulence-activated genes (*vag*)であるが、*fim3* は Pfim3 poly(C)長および Bvg+/−環境条件により *vag* または virulence-repressed genes (*vrg*)に変化することが明らかとなった。[大塚菜緒, Valérie Bouchez, Nicole Guiso (パスツール研), 平松征洋, 蒲地一成]

2. 4Plex リアルタイム PCR を用いた百日咳病原体サーベイランス

2013-14 年に国内医療機関から送付された百日咳様患者検体について、4Plex リアルタイム PCR を用いた病原体検索を実施した。患者検体 355 件のうち百日咳菌陽性は 94 件 (26%)、パラ百日咳菌は 4 件 (1.1%)、マイコプラズマは 2 件 (0.6%)、*Bordetella holmesii* は 0 件であった。百日咳菌の陽性率は月齢 3 ヶ月未満が 49%と高かったが、10 歳代でも 29%という高値を示した。乳児と同様に 10 歳代は百日咳菌の易感染者となることが示された。[蒲地一成, 吉野修司 (宮崎衛研), 勝川千尋 (大阪公衛研), 大塚菜緒, 平松征洋, 柴山恵吾]

3. フィリピンにおける百日咳流行株の分子疫学的解析

2012-14 年にフィリピンの 3 医療機関に入院した重症患児について、臨床検体を用いた MLVA 解析を実施した。決定された遺伝子型のうち半数が MT34 を示し、残りも MT34 と近縁な遺伝子型であった。また、すべてが同じ遺伝子アレル (*ptxP1-ptxS1-prn1-fim3A*) を示し、フィリピンの流行株は先進国のものと異なることが判明した。[Salvacion Rosario L. Galit, Daryl Joy V. Almonia, Lydia T. Sombrero, Rosario Z. Capeding, Socorro P. Lupisan (フィリピン熱帯医学研), 古瀬祐気, 齊藤麻理子, 押谷仁 (東北大・医), 大塚菜緒, 平松征洋, 柴山恵吾, 蒲地一成]

4. 百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* の自己凝集抑制因子 BipA に関する研究

B. holmesii の国内臨床分離株の中に自己凝集を示す菌株を見出し、この株は BipA タンパク質を欠損していることが判明した。同様に、*B. holmesii* の非自己凝集株 (BipA 発現株) の *bipA* 遺伝子を相同組換えにより欠失させた

BipA 欠損株も自己凝集能を示した。また、BipA 欠損株では、呼吸器への持続的な定着に必要なとされるバイオフィルム形成能が失われていた。これらの結果から、*B. holmesii* の BipA は自己凝集を抑制する機能を有するとともに、バイオフィルムの形成に必要な因子であることが明らかとなった。[平松征洋、大塚菜緒、柴山恵吾、鈴木英里、渡邊峰雄（北里大）、蒲地一成]

XI. 破傷風菌に関する研究

1. 破傷風トキソイドを用いたアジュバントとしての人工エラスチン蛋白の可能性-1

人工エラスチン蛋白（ELP）のゲル化を利用し、ワクチンの免疫原性とその持続性を検討している。昨年度に引き続き、親水性や分子量の異なる3種類のELPを用いて性状の違いによる破傷風トキソイドの免疫原性に対する影響を検討した。その結果、破傷風抗体価に有意な差は認められなかったが、最高抗体価とそのピークの時期が性状により異なる傾向がみられた。[福田 靖、浅井大輔]

2. 破傷風トキソイドを用いたアジュバントとしての人工エラスチン蛋白の可能性-2

Poly(I:C)は、ウイルスの dsRNA と同様に免疫細胞を活性化し、I型 IFN を誘導することが知られていることから、今回人工エラスチン蛋白（ELP）混合破傷風トキソイドに poly(I:C)を混合し、そのワクチンの免疫原性に対する影響を検討した。その結果、破傷風抗体価の最高値に有意な差は認められなかったが、poly(I:C)を混合する事により最高値の時期が早くなる傾向がみられた。[福田 靖、浅井大輔]

XII. 蛇毒素に関する研究

1. ヤマカガシ抗毒素は 2000 年に厚生労働研究班によって作製された標品を用いて緊急時の患者の治療がなされている。現ロットは製造後 14 年経過したため、その代替抗毒素の必要性があり、類似の毒蛇による咬傷用に海外で市販されている抗毒素 2 種を候補として、ウサギ出血活性の中和試験で力価を評価した。その結果、これらの製剤のヤマカガシ毒素に対する出血毒性の中和活性はヤマカガシ抗毒素（現行ロット）の 1/6 程度であることから、代替抗毒素としてヤマカガシ咬傷の治療に用いることは有用ではないかと考察された。[山本明彦、柴山恵吾、阿戸学（免疫部）、一二三亨（香川大学）]

XIII. バルトネラ菌に関する研究

1. 壱塚熱原因菌である *Bartonella quintana* の感染リスクを把握する目的で、昆虫医科学部、疫学センター、東京都済生会中央病院との共同研究として、当該病院に救急搬送された路上生活者からシラミと患者血液を採取した。これら検体を用い、長期培養および PCR による病原体の検出、IgG 抗体価の測定等を行った。

[久保田眞由美、佐々木年則、沢辺京子、山岸拓也、柴山恵吾（感染研）、伊藤航人、川崎麻紀、足立智秀（済生会中央病院）]

2. オロヤ熱原因菌である *Bartonella bacilliformis* の診断系確立を目指し、*B. bacilliformis* 特異抗原の探索を行なった。南米ペルー山岳地帯に住む人から集めた血清を用いて全菌体に対する抗体価を測定し、高抗体価を示した血清と強く反応する数種類のタンパクを同定した。

[Cláudia Gomes (CRESIB, SPAIN)、久保田眞由美]

XIV. 厚生労働省院内感染対策サーベイランスデータを用いた研究

1. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）の海外展開

WHO は薬剤耐性菌対策を重要視し各国にサーベイランスの強化を求めているが、アジア地域の多くの国では国レベルの薬剤耐性菌（AMR）サーベイランスが実施できていない。日本で一定の実績のある JANIS 検査部門システムを導入することで、これらの国の AMR サーベイランスを支援することを目的に、まずは J-GRID で神戸大学が連携しているインドネシア・スラバヤ市のストモ病院で JANIS システムの導入を試みた。あらかじめ細菌自動検査機器メーカーに JANIS 抽出用フィルターを、JANIS データ管理業者には JANIS フォーマット変換ツールを作成してもらい、現地でのデータ変換作業を行ったところ、JANIS システムで取り込み可能なデータを作成することができた。一部エラーデータがみられたため、今後データのすり合わせなどを行っていく必要がある。[筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾]

2. JANIS と JVARM のデータ統合による家畜由来耐性菌と臨床由来耐性菌分離率比較

薬剤耐性菌のモニタリング/サーベイランスシステムである農林水産省の食品媒介性病原体細菌の薬剤耐性モニタリング事業（JVARM）において蓄積されたデータを、

厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業のデータと比較可能な形式でデータベース化したうえで2003年から2013年までの薬剤耐性率の推移を比較した。JANIS データでみられる大腸菌のフルオロキノロンに対する顕著な耐性化はJVARM データでは認められなかった。テトラサイクリン系やクロラムフェニコールについては、肉用鶏や豚で、過去10年間継続的にJANIS データよりも高い耐性率を示していたが、JANIS データ、JVARM データともに耐性率の明らかな上昇または低下の傾向は認められなかった。

[鈴木里和、柴山恵吾、（以下、動物医薬品検査所検査第二部）比企基高、川西路子]

レファレンス業務

I. 薬剤耐性菌関係

1. 薬剤耐性菌解析のための陽性コントロール用 DNA 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、各種β-ラクタマーゼ遺伝子、バンコマイシン耐性遺伝子のPCR解析のための陽性コントロール用DNAおよび試験手順書の分与を行った。[松井真理、鈴木仁人、鈴木里和、筒井敦子、甲斐久美子、鯉坂裕美、瀧世志江]

II. 百日咳関係

1. 百日咳検査キットの供与

百日咳実験室診断の強化・拡充を目的に、地方衛生研究所8施設に *Bordetella holmesii*-LAMP キット（1キット）ならびに4PlexリアルタイムPCRキット（10キット）を供与した。また、百日咳類縁菌陽性コントロールDNAを1施設に供与した。[蒲地一成、柴田美幸、大塚菜緒]

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（JANIS）事業は、平成26年度の診療報酬改定で感染防止対策加算1の施設基準で検査部門に参加していることが要件に含まれたことにより、新規に検査部門に参加する医療機関が増え、平成27年2月時点で参加医療機関数は1671施設となった。これらの医療機関より提出されたサーベイランスデータをもとに月報（参加医療機関向け）、期報、年報を作成しホームページ上で公開した。検査部門・全入

院患者部門の公開情報では、新たに施設特性別（200床以上/200床未満）の集計結果が追加された。検査部門では各施設から報告されたMIC値をもとに、原則CLSIの基準に則ってSIR判定し集計しており、2014年12月まではCLSI 2007を使用していたが、2015年1月よりCLSI 2012に準じた判定基準に切り替えた。また、2015年1月より検査部門・全入院患者部門でカルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)が集計対象に加わった。2015年3月には、運営会議が開催され、参加要件の見直しや参加登録抹消要件の追加などが承認された。事業の情報提供として、JANISのデータ提出・活用のための説明会を4回、衛生検査所向け説明会を1回開催した。また、2422件の医療機関等からの問い合わせに対応した。[筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾、大木留美、村山詠美、後藤佑介、瀧世志江、小川由弥子]

II. 百日咳関係

1. 医療機関（14施設）からの依頼を受けて、百日咳様患者の病原体診断を31件実施した。[蒲地一成、柴田美幸、大塚菜緒、平松征洋]

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. 「日本薬局方、参考情報、バイオテクノロジー応用医薬品/生物基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：PCR法」の改正原案の作成に携わった。[佐々木裕子]

2. マウスに与える苦痛の少ない *in vitro* 破傷風トキシイド力価試験法の開発を昨年度に引き続き行なっている。昨年度、毒素の標的蛋白VAMP2とEYFPの融合蛋白質の特異的切断を指標として毒素活性を安定的に検出する実験系を構築したので、本年度はこの実験系を用いて血清中の毒素活性中和能が検出できるかどうかの検討を行なった。1反応（25μL）あたり500LD₅₀の破傷風毒素による融合蛋白質の切断が、0.05国際単位の標準破傷風抗毒素で中和（阻害）されることが確認され、中和能の測定に応用できる可能性が示された。[岩城正昭、見理剛]

II. 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

細菌第二部

1) ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン（皮内用 0.5 mg）関連

ア. 36 ロットの書類審査を行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、森茂太郎]

イ. 依頼試験として5ロットの力価試験を行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、持田恵子、森茂太郎]

2. 承認前検査の実績

1) 沈降肺炎球菌ポリサッカライド及び無莢膜型インフルエンザ菌プロテイン D 結合型ワクチンジフテリアトキソイド(DT バルク)における、ジフテリアトキソイド無毒化試験および破傷風トキソイド (TT バルク) における破傷風トキソイド無毒化試験を行った[小宮貴子、山本明彦、岩城正昭、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾]

2) 乳濁細胞培養インフルエンザ HA ワクチン、沈降 10 倍肺炎球菌結合型ワクチンについて、エンドトキシン試験を担当した。[持田恵子、蒲地一成]

3. 標準品、参照品の制定

1) 日本薬局方抗生物質標準品について、以下のロット更新、サブロット更新を行った。

ロット更新 (11 品目) : アルベカシン硫酸塩、セフピロム硫酸塩、バシトラシン、ロキシスロマイシン、セフカペンピボキシル塩酸塩、ストレプトマイシン硫酸塩、クラリスロマイシン、アミカシン硫酸塩、ベンジルペニシリンカリウム、トブラマイシン、セファロチンナトリウム

サブロット更新 (6 品目) : フラジオマイシン硫酸塩、ペパシリン、エピルピシン塩酸塩、セファゾリン、アンピシリン、セフジニル

[松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、鈴木里和、近田俊文、吉村由美子、粕谷裕子]

2) 破傷風トキソイドの標準化作業を行った[岩城正昭、小宮貴子、山本明彦、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾、与那嶺澄代]

3) C 型、D 型、G 型診断用ボツリヌス抗毒素の標準化作業を行った。 [岩城正昭、山本明彦、妹尾充敏、加藤はる、与那嶺澄代]

国際協力関係業務

I. JICA 関係

1. WHO 西太平洋事務局が主催した薬剤耐性菌対策に関する会議に出席し、厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) 事業など、日本の薬剤耐性菌対策に関する発表を行い、また、今後の対策の在り方について他の出席者らと検討を行った。[鈴木里和]

2. JICA 国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化研修」において「無菌試験とマイコプラズマ否定試験」について講義した。(平成 27 年 1 月) [佐々木裕子]

3. 平成 27 年 1 月 JICA 集団コース「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」平成 27 年 2 月 JICA 国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」において DPT ワクチンに関する講義を行なった。[岩城正昭]

4. JICA 国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」において、BCG ワクチンに関する講義を行った。(2015 年 2 月) [堀野敦子、森茂太郎]

5. JICA 国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」において、DPT ワクチンの品質管理について講義を行った。(2015 年 2 月) [岩城正昭、大塚菜緒]

II. WHO 関係

1. マレーシア国研修生に対し DPT ワクチンの品質管理について講義を行った。(2014 年 10 月) [岩城正昭、大塚菜緒]

研修業務

I. 薬剤耐性菌に関する研修

1. 院内感染関連病原体（薬剤耐性菌および *Clostridium difficile*）に関する研修

2014 年 8 月(2 回)、10 月(1 回)および 11 月(1 回)に、地方衛生研究所を対象に院内感染関連病原体の細菌研修会の座学および実習を計 4 回行い、20 施設 23 名が受講した。また、海外の共同研究機関の研究者らを招聘し同様の研修を実施した。韓国、ベトナム、中国、フィリピン、ミャンマーより計 7 名が受講した。[松井真理、鈴木仁人、鈴木里和、妹尾充敏、福田靖、加藤はる、甲斐久美子、瀧世志江、与那嶺澄代]

2. 平成 26 年度 希少感染症技術研修会において薬剤耐性菌に関する講義を行った。[松井真理、鈴木里和]

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「微生物管理と試験法」について講義した。(平成 26 年 5 月) [佐々木裕子]

III. ヘモフィルス インフルエンザに関する研修

1. 感染症流行予測調査事業の一環として、北海道立衛生研究所等を対象に *H. influenzae* の莢膜型別の研修を実施した。平成 26 年 8 月 7-8 日 [佐々木裕子]

IV. ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

1. 2014 年 11 月 19 日から 21 日まで、動物実験を中心にボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会を行った。愛媛県、広島県、岡山県、香川県から 4 地研が参加した。[岩城正昭、山本明彦、妹尾充敏、加藤はる、与那嶺澄代]

その他

I. 行政科学等に対する対応

1. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症が 5 類全数届出疾患に追加されるにあたり、厚生労働省に対し海外および国内のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌に関する資料作成、情報提供等を行った。[松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾]
2. 日本薬局方、生物試験法委員会が開催され (3 回)、出席した。[佐々木裕子]
3. 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]

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 (メール・グリスト) を運用し、医療機関や地方衛生研究所等からの 115 件の質問、相談、解析依頼に対応した。[鈴木里和、

松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、柴山恵吾]

2. 依頼があった医療機関や地域の研究会・勉強会において *Clostridium difficile* 感染症について講義や講演を行った [加藤はる]。

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表
 - 1) Umene YD, Wong LK, Satoh T, Yamane K, Matsui M, Riley LW, Arakawa Y, Suzuki S. Molecular epidemiology characterization of uropathogenic *Escherichia coli* from an outpatient urology clinic in rural Japan. J Clin Microbiol 2015, 53:681-3
 - 2) Hosoda T, Wakuta M, Ishii J, Tsuge I, Matsui M, Suzuki S, Yamada K, Suzuki K, Ishikawa K, Yoshida S. Emergence of *Salmonella* strain that produces IMP-1-type metallo- β -lactamase in a Japanese patient. Jpn J Infect Dis 2015, 68:75-6
 - 3) Tran HH, Ehsani S, Shibayama K, Matsui M, Suzuki S, Nguyen MB, Tran DN, Tran VP, Tran DL, Nguyen HT, Dang DA, Trinh HS, Nguyen TH, Wertheim HFL. Common isolation of New Delhi metallo- β -lactamase 1-producing Enterobacteriaceae in a large surgical hospital in Vietnam. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2015, 34(6):1247-54
 - 4) Asai S, Umezawa K, Iwashita H, Ohshima T, Ohashi M, Sasaki M, Hayashi H, Matsui M, Shibayama K, Inokuchi S, Miyachi H. An outbreak of *bla*_{OXA-51-like}- and *bla*_{OXA-66}-positive *Acinetobacter baumannii* ST208 in the emergency intensive care unit. J Med Microbiol 2014, 63:1517-23.
 - 5) Takaya A, Kimura A, Sato Y, Ishikawa N, Watanabe M, Matsui M, Shibayama K, Yamamoto T. Molecular characterization of linezolid-resistant CoNS isolates in Japan. J Antimicrob Chemother 2015, 70(3):658-63.
 - 6) Matsui M, Suzuki S, Yamane K, Suzuki M, Konda T, Arakawa Y, Shibayama K. Distribution of carbapenem resistance determinants among epidemic and non-epidemic types of *Acinetobacter* species in Japan. J Med Microbiol 2014, 63:870-7.
 - 7) Suzuki M, Hosoda E, Matsui M, Arakawa Y. New PCR-based open reading frame typing method for easy, rapid, and reliable identification of *Acinetobacter baumannii* international epidemic clones without performing multilocus

- sequence typing. *J Clin Microbiol* 2014, 52(8):2925-32.
- 8) Nakano, R., Nakano, A., Hikosaka, K., Kawakami, S., Matsunaga, N., Asahara, M., Ishigaki, S., Furukawa, T., Suzuki, M., Shibayama, K., and Ono, Y. (2014) First report of metallo- β -lactamase NDM-5 producing *Escherichia coli* in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 58(12): 7611-7612.
- 9) Hagiya, H., Murase, T., Suzuki, M., Otsuka, F., and Shibayama, K. (2014) An emergence of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae at a Japanese critical care setting. *Acute Med Surg* 1(4): 256-258.
- 10) Suzuki, M., Suzuki, S., Matsui, M., Hiraki, Y., Kawano, F., and Shibayama, K. (2014) A subclass B3 metallo- β -lactamase found in *Pseudomonas alcaligenes*. *J Antimicrob Chemother* 69(5): 1430-1432.
- 11) Morikane K, Honda H, Yamagishi T, Suzuki S. Aminaka M. Factors associated with surgical site infection in colorectal surgery: the Japan nosocomial infections surveillance. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2014 Jun;35(6):660-6.
- 12) Kenri T., Sekizuka T., Yamamoto A., Iwaki M., Komiya T., Hatakeyama T, Nakajima H, Takahashi M, Kuroda M and Shibayama K. Genetic characterization and comparison of *Clostridium botulinum* isolates from botulism cases in Japan between 2006 and 2011. *Appl Environ Microbiol* 80, 6954-64 (2014).
- 13) Nishimura S, Kou T, Kato H., Watanabe M, Uno S, Senoh M., Fukuda T., Hata A, Yazumi S. Fulminant pseudomembranous colitis caused by *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in a healthy young woman in Japan. *J Infect Chemother* 2014 20: 729-731.
- 14) Hifumi T, Sakai A, Yamamoto A., Murakawa M, Ato M, Shibayama K., Kato H, Koido Y, Inoue J, Abe Y, Kawakita K, Hagiike M, Ginnaga A, Kuroda Y. Effect of antivenom therapy of *Rhabdophis tigrinus* (Yamakagashi snake) bites. *J Intensive Care* 2014 2: 44.
- 15) Silva A, Hifumi T, Sakai A, Yamamoto A., Murakawa M, Ato M, Shibayama K., Ginnaga A, Kato H, Koido Y, Inoue J, Abe J, Kawakita K, Hagiike M, Kuroda Y: *Rhabdophis tigrinus* is not a pit viper but its bites result in venom-induced consumptive coagulopathy similar to many viper bites. *J Intensive Care* 2014 2: 43.
- 16) Hifumi T, Fujimi S, Yamagishi T, Satoru Arai, Sawabe K, Yamamoto A., Ato M, Shibayama K., Ginnaga A, Kiri N, Kato H, Koido Y, Inoue J, Kishikawa M, Abe Y, Kawakita K, Hagiike M, Kuroda Y : Clinical characteristics of red-back spider bites. *J Intensive Care* 2014 2: 62.
- 17) Hifumi T, Yamamoto A., Takahashi M, Koido Y, Kawakita K: Considerations on tetanus infection in an adult with protective tetanus antibody level, *Am J Emerg Med* 2014 32: S0735-6757.
- 18) Senoh M., Kato H., Murase T, Hagiya H, Tagashira Y, Fukuda T., Iwaki M., Yamamoto A., Shibayama K. Reverse transcription polymerase chain reaction-based method for selectively detecting vegetative cells of toxigenic *Clostridium difficile*. *Microbiol Immunol* 2014 58:615-620.
- 19) Senoh M., Iwaki M., Yamamoto A., Kato H., Fukuda T., Shibayama K. Inhibition of adhesion of *Clostridium difficile* to human intestinal cells after treatment with serum and intestinal fluid isolated from mice immunized with nontoxigenic *C. difficile* membrane fraction. *Microb Pathog* 2015 81:1-5.
- 20) Kim H., Hong Y J, Shibayama K., Suzuki Y, Wakamiya N, Kim Y U. Functional analysis of the receptor binding domain of SARS coronavirus S1 region and its monoclonal antibody. *Genes and Genomics.* 2013, 36:387-397.
- 21) Kim H., Shibayama K., Rimbara E., Mori S. Biochemical characterization of quinolinic acid phosphoribosyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and inhibition of its activity by pyrazinamide. *PLOS ONE*, 2014, 20; 9(6):e100062.
- 22) Mori S., Kim H., Rimbara E., Shibayama K. Roles of Ala-149 in the catalytic activity of diadenosine tetraphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.* 2015, 79(2):236-238.
- 23) Nagasawa M, Kaku M, Kamachi K., Shibayama K., Arakawa Y, Yamaguchi K, Ishii Y. Loop-mediated isothermal amplification assay for 16S rRNA methylase genes in Gram-negative bacteria. *J Infect Chemother.* 20:635-8, 2014.
- 24) Bart MJ, Harris SR, Advani A, Arakawa Y, Bottero D, Bouchez V, Cassidy PK, Chiang CS, Dalby T, Fry NK, Gaillard ME, van Gent M, Guiso N, Hallander HO, Harvill ET, He Q, van der Heide HG, Heuvelman K, Hozbor DF, Kamachi K., Karataev GI, Lan R, Lutyńska A, Maharjan RP, Mertsola J, Miyamura T, Octavia S, Preston A, Quail MA, Sintchenko V, Stefanelli P, Tondella ML, Tsang RS, Xu Y, Yao SM, Zhang S, Parkhill J, Mooi FR. Global population structure and evolution of *Bordetella pertussis* and their relationship with vaccination. *mBio* 5:e01074, 2014.
- 25) Yamaguchi Y, Matsueda S, Matsunaga K, Takashio N, Toma-Fukai S, Yamagata Y, Shibata N, Wachino J,

Shibayama K, Arakawa Y, Kurosaki H. Crystal structure of IMP-2 metallo-β-lactamase from *Acinetobacter* spp.: comparison of active-site loop structures between IMP-1 and IMP-2. *Biol Pharm Bull.* 2015;38(1):96-101.

26) Ishiwada N, Hishiki H, Nagasawa K, Naito S, Sato Y, Chang B, Sasaki Y, Kimura K, Ohnishi M, Shibayama K. The incidence of pediatric invasive *Haemophilus influenzae* and pneumococcal disease in Chiba prefecture, Japan before and after the introduction of conjugate vaccines. *Vaccine.* 2014 Sep 22;32(42):5425-31.

27) Nakamura G, Wachino J, Sato N, Kimura K, Yamada K, Jin W, Shibayama K, Yagi T, Kawamura K, Arakawa Y. Practical agar-based disk potentiation test for detection of fosfomycin-nonsusceptible *Escherichia coli* clinical isolates producing glutathione S-transferases. *J Clin Microbiol.* 2014 Sep;52(9):3175-9.

28) Nagano N, Nagano Y, Toyama M, Kimura K, Shibayama K, Arakawa Y.

Penicillin-susceptible group B streptococcal clinical isolates with reduced cephalosporin susceptibility. *J Clin Microbiol.* 2014 Sep;52(9):3406-10.

29) Momose Y, Asakura H, Kitamura M, Okada Y, Ueda Y, Hanabara Y, Sakamoto T, Matsumura T, Iwaki M, Kato H, Shibayama K, Igimi S. Food-borne botulism in Japan in March 2012. *Int J Infect Dis.* 2014 Jul;24:20-2.

30) Banno H, Kimura K, Tanaka Y, Kitanaka H, Jin W, Wachino J, Yamada K, Shibayama K, Arakawa Y. Characterization of multidrug-resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility forming small non-Beta-hemolytic colonies on sheep blood agar plates. *J Clin Microbiol.* 2014 Jun;52(6):2169-71.

2. 和文発表

1) 松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、筒井敦子、柴山恵吾 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査 病原微生物検出情報 Vol.35(12) 5-7、2014.

2) 安部朋子、永田由美、青木知信、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾、関塚剛史、山下明史、黒田誠 プラスミド水平伝達が関与した院内感染事例 病原微生物検出情報 Vol.35(12) 9-10、2014.

3) 山岸拓也、松井珠乃、大石和徳、伊藤宏明、福住宗久、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾、関塚剛史、山下明史、黒田誠 他 大阪市内大規模病院におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の長期間にわたる院内伝播 病原微生物検出情報 Vol.35(12) 10-11、2014.

4) 松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、柴山恵吾 他 我が国で分離されるアシネトバクター属菌の分子疫学解析 病原微生物検出情報 Vol.35(12) 11-13、2014.

5) 筒井敦子、鈴木里和 厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) 事業. 耐性病原体 up-to-data ~耐性メカニズムから治療戦略まで~. 化学療法の領域、30 巻増刊号:215-223、2014.

6) 鈴木里和 【感染対策 私の視点・私の予測 論点要点 2014】厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) 事業と感染防止対策加算 .INFECTION CONTROL 23 巻 12 号 1181-1185(2014.12)

7) 鈴木里和 薬剤耐性菌による院内感染対策の実態 患者が求める「医療安全」「院内感染」対策 編者 泉福英信 P.130-137.ヒョーロン・パブリッシャーズ 2014 年 10 月

8) 鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、柴山恵吾 外来型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌の検出状況 病原微生物検出情報(2014 年 12 月) Vol. 35 (12) 287-288

9) 鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、柴山恵吾 腸内細菌科カルバペネマーゼ産生菌の検出に適したスクリーニング薬剤の検討 病原微生物検出情報 (2014 年 6 月) Vol. 35(6) 156-157

10) 内田恵理子、古田美玲、菊池裕、窪崎敦隆、遊佐精一、宮原美知子、佐々木裕子、小原有弘、大谷梓、松山晃支、大倉華雪、山口照英 日本薬局方参考情報収載マイコプラズマ否定試験のPCR法改正のための共同研究、日本マイコプラズマ学会雑誌、41:43-44、2014

11) 内田 恵理子、古田 美玲、菊池 裕、窪崎 敦隆、遊佐 精一、宮原 美知子、佐々木 裕子、小原 有弘、大谷 梓、松山 晃文、大倉 華雪、山口 照英 平成 24 年度「日本薬局方の試験法等に関する研究」研究報告、細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験の PCR 法の見直しに関する研究、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 45 : 442-451、2014

12) 見理 剛 マイコプラズマ肺炎 小学保健ニュース 少年写真新聞社 2014 年 10 月 8 日号

13) 村端真由美、加藤はる、笈西一樹、矢野久子 がん患児入院病棟の病養環境の *Clostridium difficile* による汚染、日本環境感染学会雑誌 2015. 30:22-28.

14) 瀬戸順次、安孫子千恵子、小宮貴子、山本明彦 山形県における飼い猫のジフテリア毒素原性 *Corynebacterium ulcerans* 感染状況調査、日本獣医師学会学術誌 2014.67:613-616.

15) 鈴木定彦、山口智之、金玄、横山和正、中島千絵 結核研究からハンセン病研究へ：分子生物学的見地から。

日本ハンセン病学会雑誌. 2014、 第 83 卷 3 号 21-27.

16) 森茂太郎 技術の進歩と結核菌の検査. 生物工学会誌. 2014、 第 92 卷 9 号 512.

17) 蒲地一成 百日咳菌のサーベイランス、分離菌の性状変化、*Bordetella holmesii* について. 臨床とウイルス、43(1): 17-22、 2015.

18) 蒲地一成 微生物 ABC 百日咳. up-to-date 子どもの感染症. 2(2):18-21、 2014.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Suzuki M, Suzuki S, Matsui M, Hiraki Y, Kawano F, and Shibayama K. A subclass B3 metallo- β -lactamase found in *Pseudomonas alcaligenes*. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) 2014, Centre de Convencions Internacional de Barcelona (Barcelona, Spain), May 2014

2) Matsui M, Suzuki S, Suzuki M, Shibayama K. Molecular epidemiology of *Acinetobacter* spp. and distribution of *Acinetobacter baumannii* international clone II in Japan. 54th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), September 2014

3) Suzuki M. Genomic epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Japan. The 11th Taiwan-Japan Symposium: New Technologies Applied to Public Health Including Foodborne Diseases and Drug Resistance, Centers for Disease Control, ROC (Taipei, Taiwan), September 2014

4) Suzuki S. New discoveries made by a national hospital infection surveillance. 6th Sino-American Infectious Disease Conference & the 11th Chinese American Association for Clinical Microbiology Annual Conference Joint Meeting. Shanghai, China. September 2014

5) Suzuki S. Surveillance System of Antimicrobial Resistance and Healthcare-Associated infections in Japan. 7th International Congress of the Asia Pacific Society of Infection Control (APSIC 2015). Taiwan. March 2015

6) Kenri T, Sekizuka T, Yamamoto A, Iwaki M, Takahashi M, Kuroda M, Shibayama K. Whole genome single-nucleotide polymorphism (SNP) analysis of *Clostridium botulinum* isolates from botulism cases in Japan. Interagency Botulism Research Coordinating Committee 51th Annual Meeting (IBRCC 2014). Philadelphia, PA, USA. October 26-29, 2014.

7) Gomes C, Palma N, Sandoval I, Tinco C, Gutierrez C, Kubota M, Ruiz J. Comparison of diagnosis techniques for Carrion disease in blood samples from northern Peru. Joint International Tropical Medicine Meeting, Bangkok, Thailand, December 2-4, 2014.

8) Kim H, Mori S, Rimbara E, Shibayama K. Enzymatic activity of quinolinic acid phosphoribosyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and inhibition of its activity by pyrazinamide. 14th International Union of Microbiological Societies (IUMS). July-August 2014, Montreal.

9) Mori S, Kim H, Rimbara E, Arakawa Y, Shibayama K. Molecular characterization of nicotinate phosphoribosyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, and inhibition of its activity by pyrazinamide. FEBS EMBO 2014. August-September 2014. Paris.

10) Shibayama K. Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS). - The National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan. 17th General Meeting of Korean Society of Clinical Microbiology, Namwon, Korea. June 19-20, 2014 (Oral presentation).

2. 国内学会

1) 松井真理、鈴木里和、鈴木匡弘、綿引正則、平木洋一、河野文夫、柴山恵吾 我が国で分離されるアシネトバクター属菌の分子疫学解析 第 63 階日本感染症学会東日本地方会総会学術集会 2014 年 10 月 東京

2) 松井真理、鈴木里和、鈴木匡弘、八柳潤、綿引正則、柴山恵吾 国内 78 医療機関で分離されたアシネトバクター属菌の分子疫学解析 第 26 回日本臨床微生物学会総会 2015 年 1-2 月 東京

3) 本間操、鈴木里和、松井真理、柴山恵吾 精神科病院におけるセフトリアキソン耐性 *Klebsiella oxytoca* による院内感染事例 第 26 回日本臨床微生物学会総会 2015 年 1-2 月 東京

4) 松井真理、鈴木里和、関塚剛史、山下明史、鈴木仁人、黒田誠、柴山恵吾 IMP-1 メタロ- β -ラクタマーゼ保有プラスミドの全塩基配列解読で判明した他菌種の腸内細菌科細菌の院内感染 第 88 回日本細菌学会総会 2015 年 3 月 岐阜

5) 鈴木 仁人、松井 真理、鈴木 里和、関塚 剛史、黒田 誠、柴山 恵吾 I 型分泌エフェクター・免疫蛋白質の進化と多様性、第 88 回日本細菌学会総会、長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)、2015 年 3 月 26 日-28 日、WS

コンビーナ

- 6) 平山 隆一郎、鈴木 仁人、松井 真理、鈴木 里和、柴山 恵吾、阪口 雅弘、木内 明男 イヌにおける新規口腔内常在細菌の探索、第 88 回日本細菌学会総会、長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)、2015 年 3 月 26 日-28 日
- 7) 鈴木 仁人 病原細菌における細菌間競合と進化、感染症国際研究センター・全国共同利用共同研究拠点ジョイントシンポジウム、東京大学医科学研究所 (東京都港区)、2015 年 2 月 18 日、招待講演
- 8) 鈴木 仁人、福井 康雄、梅田 豊、林 寿朗、松井 真理、鈴木 里和、柴山 恵吾 ダプトマイシン非感性 MRSA 株のゲノム解析、第 43 回薬剤耐性菌研究会、加賀観光ホテル (石川県加賀市)、2014 年 10 月 31 日-11 月 1 日
- 9) 筒井敦子、鈴木里和 JANIS (サーベイランスのやり方と意義)「JANIS 検査部門の概要と今後の展望」第 26 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2015 年 1 月 31 日
- 10) 鈴木里和 厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS)事業の概要とデータの活用 第 24 回日本医療薬学会年会 名古屋国際会議場 2014 年 9 月
- 11) 鈴木里和 国立病院機構病院群の研究協力による本邦でのアシネトバクター属の疫学調査結果 第 68 回国立病院総合医学会、パシフィコ横浜。2014 年 11 月
- 12) 鈴木里和 公衆衛生の目としてのサーベイランス 第 30 回日本静脈経腸栄養学会学術集会 神戸ポートピアホテル、2015 年 2 月
- 13) 佐々木年則、伊藤航人、久保田真由美、山岸拓也、川崎麻紀、十菱大介、平尾磨樹、伊澤晴彦、足立智英、大石和徳、柴山恵吾、澤邊京子 シラミ媒介性細菌 *Bartonella quintana* の疫学研究。第 67 回日本衛生動物学会大会、2015 年 3 月 27-29 日、金沢
- 14) 佐々木裕子、久保田真由美、柴山恵吾 細菌性髄膜炎疑い患者由来の髄液における微生物遺伝子検出手法の検討、第 9 回日本ゲノム微生物学会年会、2015 年 3 月 6-8 日、神戸
- 15) 内田恵理子、古田美玲、菊池裕、窪崎敦隆、遊佐精一、宮原美知子、佐々木裕子、小原有弘、大谷梓、松山晃支、大倉華雪、山口照英 日本薬局方参考情報収載マイコプラズマ否定試験の PCR 法改正のための共同研究、日本マイコプラズマ学会第 41 回学術集会、2014 年 5 月 22-23 日、東京
- 16) 窪崎敦隆、菊池裕、宮原美知子、遊佐精一、島崎愛加、石橋侑季、鈴木俊宏、小原有弘、大谷梓、佐々木裕子、松山晃支、大倉華雪、古田美玲、内田恵理子、山口照英 マイコプラズマ否定試験に利用可能な標準菌株および標準 DNA の調整、第 135 回日本薬学会、2015 年 3 月 25-26 日、神戸
- 17) 加藤はる 教育講演 4 *Clostridium difficile* 感染症について、第 88 回日本感染症学会学術講演会、2014 年 6 月、福岡
- 18) 加藤はる 見過ごしていませんか *Clostridium difficile* 感染症、第 11 回香川感染管理及び滅菌業務研究会、2014 年 9 月、高松
- 19) 加藤はる 外科感染症入門講座 24 *Clostridium difficile* 感染症 きほんのき、第 27 回日本外科感染症学会総会学術総会、2014 年 12 月、東京
- 20) 石村さおり、折田環、小林敦子、加藤はる Binary toxin 産生市中型 *Clostridium difficile* による偽膜性腸炎(CDI)の 1 例、第 26 回日本臨床微生物学会総会学術集会、2015 年 1 月、東京
- 21) Kato, H What is going on about *Clostridium difficile* infection in Japan? 第 45 回日本嫌気性菌感染症学会 国際シンポジウム「All about *Clostridium difficile* infection in the world」、2015 年 2 月、東京
- 22) 一二三亨、山本明彦 ヤマカガシ咬傷の臨床的特徴と抗毒素治、第 88 回日本感染症学会学術講演会、2014 年 6 月、福岡
- 23) 上野太輔、山根一和、山本明彦、中嶋洋 *Corynebacterium striatum* によるカテーテル関連血流感染症を来した 1 例、第 88 回日本感染症学会学術講演会、2014 年 6 月、福岡
- 24) 妹尾充敏、加藤はる、福田靖、柴山恵吾 毒素産生性 *Clostridium difficile* 栄養型菌の新規遺伝学的検査法の開発、第 88 回日本感染症学会学術講演会、2014 年 6 月、福岡
- 25) 妹尾充敏、加藤はる、福田靖、柴山恵吾 毒素産生性 *Clostridium difficile* の新規遺伝学的検査法の開発、第 61 回トキシシンポジウム、2014 年 9 月、鳴門
- 26) 妹尾充敏、岩城正昭、山本明彦、加藤はる、福田靖、柴山恵吾 膜面分を用いた *Clostridium difficile* 感染症 (CDI)ワクチンの開発、第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月、岐阜
- 27) 林原絵美子、森茂太郎、金玄、柴山恵吾 セフトリアキソン耐性 *Helicobacter cinaedi* におけるペニシリン結合タンパク質変異。第 88 回日本細菌学会総会。2015 年 3 月。岐阜
- 28) 金玄、森茂太郎、林原絵美子、柴山恵吾 Characterization of QAPRTase from *M. tuberculosis* H37Rv

- and inhibition of its activity by pyrazinamide. 第 87 回日本
ハンセン病学会総会・学術大会. 2014 年 9 月. さいたま
- 29) 大塚菜緒、柴山恵吾、蒲地一成 *Bordetella pertussis*
fimbriae are regulated by BvgAS system and Pfim structure.
第 88 回日本細菌学会総会、平成 27 年 3 月、岐阜
- 30) 平松征洋、大塚菜緒、柴山恵吾、鈴木英里、渡邊峰
雄、蒲地一成 百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* の自己凝
集抑制因子 BipA に関する研究. 第 88 回日本細菌学会総
会、平成 27 年 3 月、岐阜
- 31) 花輪智子、米澤英雄、蒲地一成、大崎敬子、蔵田訓、
北条史、シンシア ザマン、神谷茂 百日咳 3 型分泌装置
はバイオフィルム形成を促進する. 第 88 回日本細菌学会
総会、平成 27 年 3 月、岐阜
- 32) 山口哲矢、鈴木英里、蒲地一成、渡邊峰雄
Bordetella holmesii に対する無細胞ワクチンの開発. 第 18
回日本ワクチン学会学術集会、平成 26 年 12 月、福岡
- 33) 砂川富正、神谷元、八幡裕一郎、蒲地一成、土橋酉
紀、大平文人、徳田浩一、吉田真紀子、安藤由香 国内
複数の百日咳集団発生における百日せきワクチン有効性
に関する分析と考察. 第 18 回日本ワクチン学会学術集会、
平成 26 年 12 月、福岡
- 34) 柴山恵吾 カルバペネム耐性グラム陰性桿菌 第 3
0 回日本環境感染学会総会・学術集会 2015 年 2 月 20
日-21 日、神戸

3. その他（紀要・ホームページ等）

特許出願

鈴木 仁人、松井 真理、鈴木 里和、柴山 恵吾、一久 和
弘、成瀬 秀則、井本 裕顕、伊藤 淳史、下川 努 「抗菌
剤、殺菌剤、抗菌材料、殺菌材料、抗菌方法及び殺菌方
法」、出願番号：特願 2014-151608、2014 年 7 月 25 日
紀要

Mori S、Wachino J、Arakawa Y、Shibayama K. Crystal
structure of S147Q of Rv2613c from *Mycobacterium*
tuberculosis. PDB ID:3WO5、2014 年 12 月.