

## 5. 細菌第二部

### 部長 荒川 宜親

#### 概要

細菌第二部は、第一室（抗生物質製剤の日局標準品の作製や一斉監視指導取去検査などの品質管理業務および各種の薬剤耐性菌やそれらによる感染症の調査や対策等に関する研究）、第二室（ヘモフィルス b 型菌（Hib）ワクチンの品質管理と生物学的製剤の無菌試験、およびマイコプラズマ、インフルエンザ菌などに関する研究）、第三室（破傷風、ジフテリアの予防のためのトキソイドワクチンや各種の抗血清の品質管理業務および破傷風菌、ジフテリア毒素産生菌等に関する研究）、第四室（BCG 製剤と精製ツベルクリンの品質管理業務と結核菌を含むヒト病原性抗酸菌（らい菌を除く）に関する研究）、第五室（百日咳ワクチンの品質管理業務、エンドトキシン試験、特殊毒性試験、生物統計および百日咳菌に関する研究）の5つの室で構成されている。担当する病原体や感染症としては、上記のように、主として呼吸器系感染症の原因となる病原細菌とともに全身感染症、日和見感染症、持続性慢性感染症などの起因菌、毒素産生偏性嫌気性菌などであり、それらについて、細菌学、感染症学などの観点から細菌の病原性（薬剤耐性を含む）、細菌感染症の病態などについて研究を進めている。さらに、薬剤耐性菌等による医療関連感染症の発生要因等に関して、分子疫学的側面からの解析研究、調査等を行なった。さらに、細菌ワクチンなどの生物学的製剤の品質管理業務に不可欠な各種の標準品等の製造と検定・検査に従事するとともに、部の基盤的研究として、病原体の検査や血清診断、ワクチン等の品質管理技術の向上を目指し、試験・検査法の改良等種々の検討や研究を行なった。

所掌事務に明記されている以外の病原細菌としては、現状および将来における細菌感染症対策を見据え、多剤耐性アシネトバクター、クロストリジウム・ディフィシル、バルトネラ属菌、ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌、コリネバクテリウム・ウルセランス、ヘリコバクター・ピロリ、類鼻疽菌などについて、病原性の解明、診断技術の向上、臨床分離菌の遺伝子型別、薬剤耐性機構の解明などの研究を実施した。

品質管理業務及び研究実績の詳細については担当室毎に後述するが、本年度に部として取り組んだ代表的な課題を以下に示す。

1. WHO（WPRO）、JICA などの各種海外支援（研究）プロジェクト、国際協力事業等に協力
2. WHO の “Collaborating Center for Research and Reference Services for Immunological and Biological Products” としての活動
3. 厚生労働省の院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業の運用と改善に関する研究および運用支援
4. 薬剤耐性菌研究事業費等に基づき、国内医療機関等からの解析依頼への対応と共同研究
5. Hib ワクチンの安全性に関する研究事業費による、ワクチンの品質等に関する研究
6. 地方衛生研究所の細菌検査担当者に対する薬剤耐性菌の解析技術講習会
7. ジフテリア、百日咳、ボツリヌス症などの検査解析技術の向上と普及のため、地方衛生研究所の細菌検査担当者等を組織してのレファレンス活動

研究については、厚生労働科学研究費補助金による新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業、医薬安全総合研究事業、国際医学協力研究事業、難治性疾患克服研究事業、および、文部科学研究費補助金など様々な競争的研究費により実施された。

常勤職員の移動としては、平成21年4月1日付で松井真理が研究員（第一室）として採用された。平成21年7月1日付で齋藤良一が研究員（第五室）として採用され、平成22年3月31日付で東京医科歯科大学へ転出した。臨時職員（JANIS事業担当職員）として筒井敦子、臨時職員（事務補助、研究補助）として瀬川晶子、甲斐久美子、瀧世志江、小川（宮永）由弥子、南條友子、粕谷裕子、吉村由美子、増田まり子、久保田（松岡）眞由美、長岡芳昭、岡宮洋子、本郷有美子、鯨坂裕美が在籍した。客員研究員として新谷三春、協力研究員として黒川博史、川村久美子、長野則之、長野由起子、土井洋平、八木哲也、赤羽貴行、岩島康仁、坂本 崇、鈴木弘倫、玉井清子、鄭 波、中嶋知子、長沢光章、畑中公基、吹貝姿子、本間 操、前側恒男、村端真由美、森本泰隆、山下美穂子、山田幸司、流動研究員として大塚菜緒、石和玲子、加地千春、研究生として中村幸嗣、実習生として梅根安代、Risa 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. (49 株)、*Staphylococcus* spp. (19 株)、*Streptococcus* spp. (172 株)、*Clostridium* spp. (233 株)、*Pseudomonas aeruginosa* (73 株)、*Escherichia coli* (310 株)、*Enterobacter cloacae* (5 株)、*Citrobacter* spp. (45 株)、*Proteus mirabilis* (1 株)、*Klebsiella* spp. (29 株)、*Acinetobacter* spp. (24 株)、*Morganella morganii* (1 株)、*Haemophilus influenzae* (71 株)、*Aeromonas hydrophila* (2 株)、*Photobacterium damsela* (1 株)、*Pasteurella multocida* (1 株)、*Listeria monocytogenes* (6 株)、*Neisseria meningitidis* (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。[山根一和、松井真理、加藤はる、鈴木里和、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. アシネトバクテリウム属細菌の分子疫学的解析

2000年から2008年にかけて、医療機関から分離されたアシネトバクテリウム属細菌106株について遺伝子学的手法を用いて再同定を行った。医療機関で主に用いられる生化学的性状による同定法で *Acinetobacter baumannii* と報告された菌株には、実際は他の *Acinetobacter* spp. が多く含まれており *A. baumannii* と再同定された株の割合は約35%であった。*A. baumannii* 21株については、耐性遺伝子の解析及び multilocus sequence typing (MLST) による遺伝子型別を行った。日本独自と思われる新たな遺伝子型の株を同定した一方で、海外流行株と同一の遺伝子型を持つ株があることも明らかとなり、今後さらなる警戒が必要であることが示唆された。[松井真理、鈴木里和、山根一和、荒川宜親]

3. プラスミド性フルオロキノロン耐性遺伝子 *qepA* の LAMP 法による検出

薬剤耐性の表現型ではスクリーニングが難しいプラスミド性フルオロキノロン耐性遺伝子のうち、*qepA* について LAMP 法による検出法を開発した。[山根一和、堀野敦子]

## 4. 多剤耐性大腸菌の分子疫学研究

2000年頃より基質拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生大腸菌の分離が我が国も含め、世界各地で増加しており、世界的流行株の大腸菌 O25-ST131 の関与が示唆されている。これまでの報告のほとんどは ESBL 産生大腸菌 O25-ST131 に関する報告であったため、今回、いずれも ESBL 非産生の臨床検体由来大腸菌を収集し、MLST などのタイピング解析を行い ST131 クローンの頻度およびフルオロキノロン系抗菌薬耐性との関連について検討を行った。結果、ESBL 非産生の大腸菌、特に血清型 O25 の大腸菌においても ST131 が高い割合を占めていた。さらに、大腸菌 O25-ST131 は ESBL 非産生であってもフルオロキノロン耐性であるものがほとんどであることから、フルオロキノロン耐性大腸菌 O25-ST131 がまず先行して蔓延し、その後耐性遺伝子を獲得したことが示唆された。[鈴木里和、山根一和、松井真理]

## 5. バンコマイシン耐性腸球菌保菌にかかわるリスク要因のメタアナリシス

平成21年度に実施したバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)保菌の危険因子にかかわる症例対照研究より、胃酸分泌抑制剤(H2ブロッカー、プロトンポンプ阻害剤)が危険因子であることが示唆された。そこで、これまでに報告されている同様の研究の論文を検索し、メタアナリシスによりこの知見を検討した。これまで胃酸分泌抑制剤とVREとの関連について調べた研究は乏しく、4件の報告のみであったが、メタアナリシスの結果これらの二つの要因には統計学的に有意な関連が認められた。[鈴木里和、山根一和]

## 6. 16S rRNA メチルトランスフェラーゼの X 線結晶構造解析

16S rRNA メチルトランスフェラーゼ NpmA の基質結合部位に S-adenosyl-L-homocysteine を導入し、共結晶を作製した。回折データの収集は放射光科学研究施設にて行い、高次構造を決定した。[和知野純一]

II. 抗菌薬関連下痢症/*Clostridium* spp. 等に関する研究1. *Clostridium difficile* BI/NAP1/027 株の loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法による検出

*Clostridium 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 LAMP 法による迅速・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

3 医療施設において *C. difficile* 感染症 (CDI) 症例から分離された 176 菌株において PCR ribotyping 解析を行った。病院 A では、3 タイプが時期や病棟に偏りなく優勢であった。病院 B では同一タイプが 70% を占め、本菌株が多くの症例に伝播したと考えられた。医療施設 C では、あるタイプ菌株による症例のクラスターは認めるものの、多数の症例に伝播している優勢株はなかった。病院 A および C で、欧米で流行株として問題となっている PCR ribotype 027 株 (BI/NAP1/027) が分離された症例を各々の病院において 1 例ずつ認めた。[加藤はる、加地千春、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江] [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、binary toxin 遺伝子陽性菌株について、特に、北米流行株 NAP1/027 株かどうかを含めて検討を行った。[加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江]

## 4. *Clostridium difficile* 感染症アウトブレイク疑い事例における菌株解析

山形県の医療施設において *C. difficile* 感染症アウトブレイク疑い事例があり、菌株解析が依頼された。糞便検体より *C. difficile* 分離培養を行い、タイピング解析を行ったところ、同時に 2 タイプの菌株が院内伝播していることがわかった。[加藤はる、加地千春、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江、荒川宜親] [鈴木 聡、若松由起子、中嶋知子、庄司知摩 (鶴岡市立荘内病院)]

## 5. *Clostridium difficile* 以外の *Clostridium spp.* の依頼解析

消化管穿孔症例から分離された *Clostridium perfringens* の解析を依頼され、major toxin および enterotoxin 遺伝子の検出解析を行った。[加藤はる、加地千春、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発症、特に関節炎の新規診断法の検討ならびに病態解析

マイコプラズマ感染による肺外発症については、症例、疫学報告は多いが、診断可能例は一部にとどまると考えられる。リウマチ性関節炎患者の関節液からの *Mycoplasma fermentans* 検出率が有意に高いという疫学報告に着目し、我々は、膝関節腔への生菌投与による関節炎動物モデルを作成している。この動物モデルを用いて、*M. fermentans* 新規診断系の評価ならびに *M. fermentans* 菌体成分による前処理の効果について検討した。結果として、新規診断法の *in vivo* での有用性が示され、また、前処理によりリンパ濾胞形成等の病態の変化が示唆された。[佐々木裕子、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)、松田和洋 (産業技術総合研究所)、荒川宜親]

## 2. 百日咳が疑われる患者における *Mycoplasma pneumoniae* 感染者が占める割合の検討

百日咳が疑われる患者に *M. pneumoniae* 感染者が占める割合について、LAMP 法を用いて 6 カ所の地方衛生研究所と協力して検討している。また、*M. pneumoniae* 陽性のサンプルについては、*p1* 領域における RFLP 法で型別を行い、*M. pneumoniae* の型の移行状況を観察中である。[堀野敦子、見理 剛、蒲地一成、鯉坂裕美]

## 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

平成 20 年度に引き続き 9 県で小児侵襲性感染症から分離された *H. influenzae* 39 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。また、平成 19 年～20 年における分離株 107 株について、Multilocus sequence typing (MLST) 解析を行った。血清型については全株が b 型で、生物型については 1 型が優勢であった。β-ラクタマーゼ産生株は 39 株中 5 株 (13%) であった。MLST 解析では、sequence type (ST) 54, ST190 が大多数を占め、ヨーロッパで多く分離される ST6 は少数であった。[加地千春、木村幸司、久保田 (松岡) 眞由美、佐々木裕子、加藤はる、荒川宜親]

2. 小児細菌性髄膜炎培養陰性症例の起因菌推定

細菌性髄膜炎疑い症例において、培養陰性であった髄液検体について PCR により起因菌推定を行った。8 検体の培養陰性髄液検体のうち、1 検体において *Streptococcus pneumoniae* に特異的な遺伝子が検出され、残りの 7 検体

では陰性であった。[久保田(松岡)眞由美、佐々木裕子、木村幸司、加藤はる、荒川宜親]

## V. ジフテリア菌等に関する研究

### 1. ジフテリア菌ワクチン株 PW8 の接着因子遺伝子の解析

ジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*) 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を昨年報告した。*spaABC* 遺伝子の産物である線毛はジフテリア菌の宿主細胞への付着に重要であるが、PW8 株におけるそれらの遺伝子の配列を決定したところ、*spaA* と *spaB* には小規模な in-frame deletion が認められ、*spaC* においては 470bp の欠失による frameshift 変異が観察された。PW8 株においてはこの線毛が機能していないと考えられる。[岩城正昭、石和玲子、小宮貴子、高橋元秀]

### 2. ジフテリア菌の血球凝集活性における糖鎖の役割

ジフテリア菌の病原性メカニズムを考える上で、その血球凝集能は良い指標であるが、その機構はまだわかっていない。ジフテリア菌 ATCC700971 (NCTC13129) 株によるヒト赤血球凝集において、糖鎖の果たす役割を解析した。赤血球をあらかじめトリプシンまたはノイラミニダーゼそれぞれ単独で処理すると、未処理赤血球に比べて強い凝集が観察された。両方で処理された赤血球はさらに強い凝集を示した。血球表面の蛋白質が消化されることで糖脂質が露出し、糖鎖の末端シアル酸が除去されることで、菌の凝集因子による認識が促進される可能性が示された。[石和玲子、岩城正昭、高橋元秀]

### 3. ジフテリア菌の溶血活性における糖鎖の役割

ジフテリア菌 C7(-)株は赤血球凝集活性を示さないが、溶血活性を有する。ジフテリア菌 ATCC27010 (C7(-)) 株によるヒト赤血球溶血において、糖鎖の果たす役割を解析した。C7(-)株の溶血活性は、ATCC700971 (NCTC13129) 株による赤血球凝集活性と異なり、トリプシンまたはノイラミニダーゼおよびその両方による赤血球の前処理によって影響を受けることはなかった。C7(-)株の溶血活性には、糖鎖が関与しないことが示唆された。[石和玲子、岩城正昭、高橋元秀]

### 4. 国内で分離された *Corynebacterium ulcerans* において見出された新規リボタイプ

rRNA 遺伝子の配列の相違に基づくリボタイピングは、ジフテリア菌の標準タイピング法である。ジフテリア類

似の疾患の原因となる *C. ulcerans* についてもリボタイピングが標準法となりつつあり、現在までに 9 種のリボタイプが報告されている。昨年度、国内で最初に分離された *C. ulcerans* の 2 菌株が互いに異なることを見出したが、英国 Health Protection Agency と共同でデータベースとの照合を行なったところ、1 菌株は既知の U4 タイプ、もう 1 菌株は新規のリボタイプであることが判明した。[小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀]

### 5. ジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* によるジフテリア様患者の確認

平成 21 年 1 月にジフテリア毒素産生性 *C. ulcerans* による国内 6 例目のジフテリア様患者が確認された。平成 21 年 7 月 22 日、各都道府県衛生主管部長宛の結核感染症課長の通知で本症に対する周知と情報提供があった。その後の調査において一般家庭で飼育する猫から、また各地で当該菌が分離されている。我が国における本菌の分布および本菌による愛玩動物、人の潜在的な患者の発生把握が必要である。[小宮貴子、山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀 (感染研)、地方衛生研究所及びジフテリアレファレンスセンター、日本小動物獣医学会、東京医科歯科大学、大阪府立大学]

### 6. 犬猫等における *Corynebacterium ulcerans* の調査及び解析

平成 21 年 11 月 14 日～平成 22 年 3 月 23 日までに、香川県及びその他の県の全国獣医師会理事会関係動物病院合計 18 施設から、イヌ、ネコのスワブ及び血清 199 検体と、大阪府と兵庫県の動物病院合計 3 施設で、ウルセランス調査を行った結果、ジフテリア毒素原性陽性の *C. ulcerans* 29 株が検出された。血中ジフテリア抗毒素は、25 検体から検出された。PFGE の結果、22 株はヒト由来岡山 2005 年株と同じタイプで、7 株はネコ由来静岡 2009 年株と同じタイプであった。[小宮貴子、高橋元秀]

### 7. ジフテリア毒素原性 *Corynebacterium ulcerans* の PFGE タイプ検討

平成 21 年度までに国内で収集した合計 103 株のジフテリア毒素原性 *C. ulcerans* (ヒト、イヌ、ネコ、シャチ由来株) について、PFGE を行った結果、8 タイプに分類された。2005 年に岡山でヒト患者より分離された株と同じタイプが最も多く、74 株であった。[小宮貴子、高橋元秀]

## VI. 破傷風菌及びボツリヌス菌等に関する研究

### 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、今回 35 都道府県から 600 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 300 検体について、30 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. 黄砂からの嫌気性菌の分離

乳児ボツリヌス症は、日本国内の土壌ではほとんど分離されない A 型ボツリヌス菌の感染によって起こり、乳児に特異的に発生し長期の入院を強いる重篤な疾患である。1986 年より本邦において発生があり、これまでに 26 例を数える。このうち半数は、蜂蜜の摂食による事が明らかであるが残りの原因は明らかではない。そこで、毎年 3 月から 5 月に A 型ボツリヌス菌が土壌に多く存在する中国より飛来する黄砂を 6 箇所の環境衛生研究所の協力を得て採集し、嫌気性菌の分離を試みた。現在までに破傷風菌が 7 株分離された。[山本明彦、岩城正昭、見理剛、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀]

### 3. 食品からのボツリヌス菌検出法における統一法の検討

食品からのボツリヌス菌検出法の統一法を作成することを目的に検討をしている。細菌試験法の基本である培養法に比べて、PCR 法などによる遺伝学的手法には新しい知見が報告される頻度が高い。このため原案として「ボツリヌス菌試験法(案)」と、新規の技術に対応して改正する頻度が高いと考えられる「分離菌株の PCR 法によるボツリヌス毒素遺伝子検出法(案)」の二部に分割して標準法検討委員会と協議中である。[高橋元秀、浅尾 努(日本食品分析センター):厚生労働科学研究費補助金・食品の安心安全確保推進研究事業]

### 4. 糖鎖を用いたボツリヌス毒素除去法

糖鎖を用いたボツリヌス毒素除去法を開発するため、前年精製した B 型ボツリヌス 16S 毒素のラクトース結合中空糸 (DIC 株式会社との共同研究で供与) への吸着を試みた。中空糸 5cm<sup>2</sup> に、約 300000 マウス LD<sub>50</sub> の精製毒素 (Okra 株由来) を含む水溶液 1ml を加え一晩 4°C で震盪し、上清中の毒素量を Western blotting 法およびマウスを用いたバイオアッセイ法で調べたところ、90%以上

の毒素が溶液中から除かれていることが確認された。この中空糸はボツリヌス 16S 毒素除去器具のための良い材料となりうる事が示唆された。[石和玲子、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に対する作用を解析するとともに、BCG でこの酵素の欠損株を作成した。[森茂太郎、和知野純一、柴山恵吾、荒川宜親]

### 2. 非結核性抗酸菌の薬剤耐性メカニズムの解析

*Mycobacterium avium* の抗菌薬耐性に関する因子として *kasB* 遺伝子を特定した。*kasB* 遺伝子は細胞壁構成成分であるミコール酸の生合成に関与していると予測された。*kasB* 遺伝子の変異体は、クラリスロマイシン、リファンピシン、ストレプトマイシンに対する感受性が野生株に比べ著しく増加していた。[和知野純一]

### 3. 結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素の機能構造相関解析

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を決定した。本酵素は  $\alpha/\beta$  構造をもつ C ドメインと N-tail ドメインから構成されていた。一次構造上で相同性を示すヌクレオチド加水分解酵素の立体構造と比較した結果、基質結合部位の近傍にあるアミノ酸残基の種類が異なっていた。変異株を用いた実験結果より、これらのアミノ酸残基は活性に重要な役割を担っていることが示された。[森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、荒川宜親]

### 4. 新規抗酸菌鑑別法の開発

昨年度までに開発した新規抗酸菌鑑別法について、臨床現場での有用性を明らかにすることを目的として、臨床検体からの鑑別が可能か検討を進めた。[森茂太郎、柴山恵吾、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)]

## VIII. 百日咳菌に関する研究

### 1. 成人と小児における百日咳保菌量の解析

成人と小児における百日咳感染の実態を明らかにすることを目的に、リアルタイム PCR 法を用いて成人と小児患者における百日咳保菌量を解析した。その結果、患者鼻腔から採取される百日咳菌量は、乳児で平均  $1.1 \times 10^6$

個、小児で  $2.1 \times 10^4$  個、成人で 320 個と算出され、成人患者は小児に比較して有意に保菌量が低いことが判明した。なお、成人患者は病週に関わらず低い菌量を示し、病期による有意差を認めなかった。成人患者の百日咳保菌量は小児の 250 分の 1 程度であり、この低い保菌量が成人百日咳の非典型的な臨床像ならびに低い診断率の原因になっているものと考察された。[中村幸嗣、蒲地一成、鯉坂裕美、齋藤良一、鶴岡純一郎、勝田友博、立山悟志、徳竹忠臣、中島夏樹(聖マリアンナ医科大)、岡田賢司(福岡病院)、加藤達夫(国立生育医療研セ)、荒川宜親]

## 2. 百日咳凝集素価法における凝集反応用抗原の改良

百日咳の血清診断に用いられる菌凝集素価法について、診断精度の向上を目的に凝集反応用抗原の改良を行った。凝集抗原である東浜株と山口株に共通する凝集因子 1 を解析した結果、凝集因子 1 は *virulence associated gene* にコードされる *Vag8* と同定された。そこで、相同組み換えにより東浜株と山口株の *Vag8* 欠損株を作製し、両株における *Vag8* 欠損をイムノブロット法により確認した。現在、これら *Vag8* 欠損株の凝集反応用抗原としての有用性を評価している。[齋藤良一、岡田賢司(福岡病院)、権平文夫(デンカ生研)、渡辺峰雄(北里大)、蒲地一成]

## 3. 百日咳流行株における定着因子 *Prn* の欠損とその欠損機構に関する研究

わが国で臨床分離された百日咳菌について、定着因子 *Prn* 欠損株の流行状況ならびに *Prn* 欠損機構の検討を行った。その結果、*Prn* 欠損株はワクチン型 (*ptxA2/prn1*) の流行株に特徴的に認められ、さらに近年ではワクチン型の約 7 割を占めることが判明した。また、*Prn* 欠損機構の解析では、1) *Prn* シグナル配列の欠失、2) *IS481* の *prn1* 構造遺伝子への挿入、という 2 種類の機構が見出された。近年、*Prn* 欠損株の分離率が上昇傾向にあり、*Prn* 欠損は百日咳菌の生存に有利に働いているものと考察された。[大塚菜緒、蒲地一成、鯉坂裕美、中村幸嗣、齋藤良一、荒川宜親]

## 4. 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

百日咳流行の早期探知を目的に、遺伝子検査に基づく百日咳サーベイランスシステムの構築を行った。地方衛生研究所 6 機関(秋田、東京、神奈川、大阪、愛媛、高知)の協力を得て、2009 年 9 月より百日咳疑い患者を対象に百日咳 LAMP 検査を開始した。2010 年 3 月までの検査実績は 125 件であり、そのうち 10 件(8.0%)が検

査陽性を示した。高知県では陽性例 8 件を示したが、県内での集団感染や地域流行は確認されなかった。[蒲地一成、鯉坂裕美、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)、烏谷竜哉(愛媛衛研)、松本一繁、藤戸亜紀(高知衛研)]

## IX. *Helicobacter pylori* 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。感染局所で、宿主の正常な代謝をかく乱することが病原性発揮のメカニズムと考えられた。[柴山恵吾、森茂太郎、和知野純一、荒川宜親]

### 2. *Helicobacter pylori* の GGT の発現様式の解析

*H. pylori* の GGT の遺伝子のプロモーターを同定し、遺伝子の発現様式を mRNA と蛋白レベルで解析した。GGT は恒常的に発現されていることが分かった。[和知野純一、柴山恵吾、荒川宜親]

## X. 類鼻疽菌に関する研究

### 1. 類鼻疽菌の同定

類鼻疽菌感染が疑われた患者由来の菌の同定検査 1 件を行政依頼検査として受け付けた。培養法、LAMP 法、生化学試験ならびに補助的にモノクローナル抗体凝集反応を行った結果、この菌株は類鼻疽菌であると同定された。[堀野敦子、山根一和]

### 2. 国内で分離された類鼻疽菌のタイピング

国内で分離された類鼻疽菌 6 株についてパルスフィールドゲル電気泳動法を用いたタイピングを行った。6 株のうち 4 株は異なるバンドパターンを示したが、2 株は同様の PFGE のバンドパターンで、この 2 株は同一の患者の初感染株と再燃時に採取された株であった。[山根一和、堀野敦子]

## XI. 生物学的製剤に関する研究

1. ヘモフィルス b 型ワクチン(破傷風トキソイド結合体)の免疫原性試験の品質管理への応用についての検討  
ヘモフィルス b 型(Hib)ワクチン(破傷風トキソイド結合体)の品質管理、特に、ワクチン効果評価系として Hib 莢膜多糖抗原であるポリリボシルリビトール三リン酸(PRP)含有量については、リン総量からの計算値を用いた多糖含量試験がある。しかしながら、Hib ワクチンの抗原性は、PRP 含有量のみならず、PRP-キャリア蛋白結合体量や、アジュバントを含む抗原性干渉物質によ

る影響を受けることから、ワクチンの免疫原性試験の品質管理への応用について検討を開始した。昨年度までに作成したラットを用いた免疫原性試験を用いて、市販 Hib ワクチン 5 ロットについて、その免疫原性を調べた。抗 PRP 抗体価測定には、ヒト用抗 *Haemophilus influenzae* Enzyme Immunoassay kit (BINDAZYME™, The Binding site 社) 内の PRP プレートを用い、二次抗体にはビオチン標識抗ラット IgG 抗体を用いた。検討の結果、標準血清の選定の必要性、動物における Hib ワクチン免疫原性の容量反応性といった問題点が明らかになった。[佐々木裕子、木村幸司、久保田(松岡)眞由美、増田まり子、長岡芳昭、加藤はる、荒川宜親]

## 2. ラットによる市販乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン(破傷風トキソイド結合体) の破傷風トキソイドの力価

Hib は、キャリア蛋白として破傷風トキソイドを含み、また、DPT と接種時期が重複している。そのために、短期間にこれらのワクチンを接種される事による乳児へは、これらのワクチンの双方から破傷風トキソイド抗原を受け取ることになる。そこで、各種動物を使用して、国内市販の Hib と DPT を用い、(1) DPT 単独で、(2) Hib 単独で、(3) DPT と Hib を混合し、(4) DPT と Hib をそれぞれ異なる部位に、接種し、力価を測定した。その結果、ラットでは、それぞれ(1) 159 U/mL、(2) 193 U/mL、(3) 2986 U/mL、(4) 603 U/mL の力価を示した。[福田 靖、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、小宮貴子、高橋元秀]

## 3. インフルエンザワクチンのマウス白血球数減少試験の再評価に関する研究

マウス白血球数減少試験の精度向上を目的に、マウス系統および週齢が試験精度に与える影響について検討した。ddY、C57BL/6、BALB/c マウスの 4、6、8 週齢を比較した結果、全粒子ワクチン投与群と生理食塩水投与群の白血球数はすべての系統・週齢で有意差を示し、特に ddY 4 週齢マウスおよび BALB/c 6 週齢マウスで大きな有意差が認められた。次に、高濃度 (600 µg/mL) ならびに小分け製品相当のワクチン液 (200 µg/mL) を ddY 4 週齢マウスに接種し、白血球数減少活性の用量依存性を検討した。その結果、用量に依存したマウス白血球数減少活性は認められず、現行の HA ワクチンには白血球数減少を引き起こす生理活性物質はほとんど存在しないものと推察された。本試験の精度を考慮した場合、高濃度ワクチン液で試験を実施するとともに、それに併せた基準値見直しの必要性が指摘された。[持田恵子、福田 靖、齋藤良一、鯉坂裕美、蒲地一成]

## 4. 沈降精製百日せきワクチンの力価試験における観察期間の短縮に関する検討

百日せきワクチンの力価試験は免疫マウスを百日咳菌で攻撃し、その症状及び生死を 14 日間観察する。そこで、この観察期間が短縮可能であるか否かを検討したところ、観察 14 日後の力価と観察 12、10、7 日後の力価の相関係数はそれぞれ 0.967、0.935、0.778 を示した。一方、攻撃菌の LD<sub>50</sub> 測定ではその発症が遅れるため、観察 10 日以内では安定した結果が得られなかった。以上の結果から、現行の生物学的製剤基準のもとでは、観察期間 14 日から 12 日への短縮が可能と考えられた。[福田 靖、齋藤良一、持田恵子、鯉坂裕美、蒲地一成]

## XII. 抗生物質製剤に関する研究

### 1. 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。今年度は、ペニシリン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、松井真理、森茂太郎、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、松井真理、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、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 (DNA 抽出物を含む) 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、松井真理、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、荒川宜親]

## 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 7 施設に百日咳 LAMP 診断キット (20 キット) の供与を行った。また遺伝子検査用陽性コントロール DNA を 2 施設に供与した。[齋藤良一、鯨坂裕美、蒲地一成]

## III. ボツリヌス関係

### 1. ボツリヌス毒素の高感度検出系キット試作及び抗毒素抗体作製と提供

マウス接種法に代わるボツリヌス毒素の高感度検出系としてサンドイッチイムノ PCR 法の開発を目指し、A 型神経毒素の検出系を作製し、試験法マニュアル、試験に必要な抗体および試験キットの調整・準備を整えた。また、予備試験として利便性の高いボツリヌス A 型毒素検出用のイムノクロマトキットを作製し 18 ヶ所の地方衛生研究所に配布した。さらに、クロストリディアが産生する毒素を中和する抗毒素抗体を作製して、地研に配布した。[高橋元秀、見理 剛 (感染研)、向本雅郁、幸田幸子 (大阪府立大)、高山勝好、小林行治 ((株) アドテック)、大隈邦夫、千北一興 ((財) 化血研) : 厚生労働科学研究費補助金・新興・再興感染症研究事業]

## 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 22 年 2 月現在、全国の 867 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。倍増した問い合わせ (平成 21 年度 1260 件) への対応のほか、ホームページの全面更新や仕様確認書の作成などを行った。[筒井敦子、鈴木里和、山根一和、小川 (宮永) 由弥子、瀧世志江、荒川宜親]

#### 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

厚生労働省事業・院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) の全入院患者部門で収集された現行のデータ解析手法に関する検討を行った。院内感染の発生率を算

出する方法には分母として「入院患者あたり」と「患者日あたり」のいずれかを使用するのが一般的であり、JANIS 全入院患者部門では各薬剤耐性菌感染症の罹患率を「入院患者あたり」で算出している。今回、実際のサーベイランスデータを用いて「患者日あたり」の罹患率も併せて算出したところ、平均在院日数の長い一部の病院では、施設間比較を行う際に二つの罹患率が乖離した結果を示すことが明らかになった。次回のシステム更新の際は平均在院日数を中心に、施設特性別の解析が必要と思われた。[鈴木里和、山根一和]

## II. B 群連鎖球菌関係

### 1. 臍由来 B 群連鎖球菌におけるペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌サーベイランス

2007-2008 年に国内の妊婦臍から分離された B 群連鎖球菌 144 株について、ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の有無をディスク拡散法で検討した結果、ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌は検出されなかった。[木村幸司、松原康策 (西神戸医療センター)、山本 剛 (西神戸医療センター)、荒川宜親]

## III. 百日咳関係

### 1. 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 71 件実施した。[鯨坂裕美、齋藤良一、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. 医薬品を巡る環境の変化等に対応した生物学的製剤基準の改正のための研究

厚生労働科学研究班 (標記研究) の分担研究者として、DPT 関連の細菌ワクチンおよび抗毒素について、生物学的製剤基準の見直しが必要か、また必要であればどのような見直しについて検討を行っている。初年度である本年度は、DPT ワクチンのアルミニウム含量および力価基準値、ジフテリア (D) および破傷風 (T) トキソイドの無毒化試験法、Hib ワクチンのキャリアとして用いられる T トキソイドの破傷風力価について、および抗破傷風人免疫グロブリン力価試験法について検討した。これらの事項については、今後検討を継続する。[岩城正昭、山本明彦、見理 剛、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀]

#### 2. 乾燥 BCG 膀胱内用 (コンノート株) の生物学的製剤基準の改定に関する研究

厚生省医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「医薬品を巡る環境の変化等に対応した生物学的製剤基準の改定のための研究」の研究協力者として、乾燥 BCG 膀胱内用（コンノート株）の生物学的製剤基準に関してメーカーより提案された改定案の検討を行い、特に問題ないと結論づけた。[柴山恵吾]

### 3. 蛇ウマ抗毒素製剤の製造、品質管理及び規制の WHO ガイドライン案への対応

蛇ウマ抗毒素製剤の製造、品質管理及び規制の WHO ガイドライン案（GL）が 2008 年に示され、その国内対応として規制当局が参考に資することができるよう、WHO-GL を踏まえた上述の規制を見直す。国内製剤に関するハードの充実・改善点を具体化し、不足の部分においてはソフトで対応することを検討中である。わが国で製造・品質管理するウマ抗毒素製剤は 5 種類 6 製剤があり、将来的にはこれらすべてのウマ抗毒素製剤の GL 適応を視野に研究をおこなう。[高橋元秀、見理 剛、山本明彦、岩城正昭（感染研）、大隈邦夫、銀永明弘（化血研）、玉那覇康二（沖縄県衛生環境研究所）、一二三亨（（独）災害医療センター）、小崎俊司（大阪府立大）、櫻井信豪（（独）総合機構）、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]

### 4. 国内の品質保証制度における WHO 指摘事項・ガイドライン等への対応

国内の品質保証制度にあつては WHO が求める指摘事項・ガイドライン等への対応は、SLP の導入が指摘されている。過去に感染研で実施した EPI ワクチンの SLP 対応モデルについて整理して、今後の SLP 導入のあり方を考察した。ロットリリースにおける SLP 評価と GMP 査察の連携に関して日本版の対応策を提言することにより、国際標準基準に基づいて品質管理されたワクチンの受給体制が確保される。[高橋元秀、柴山恵吾、荒川宜親、渡辺治雄、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]

### 5. 乾燥 BCG ワクチン（最終製品）の国家検定

乾燥 BCG ワクチン（最終製品）の 1 ロットで、検定項目の試験は全て合格したが、溶解不良のアンプルが見つかった。監視指導麻薬対策課に報告し、最終的にメーカーが自主的に当該ロットの出荷を取りやめることとなった。[柴山恵吾、堀野敦子、和知野純一]

### 6. BCG ワクチンの国家検定項目の削減

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）の有毒結核菌否定試験について、国家検定の実施の必要性を検討し、廃止した。乾燥 BCG 膀胱内用（コンノート株）の菌量測定試験について、国家検定の実施の必要性を検討し、廃止した。[柴山恵吾、浜口 功・大隈 和（血液安全性研究部）、森川 茂・西條政幸（ウイルス第一部）、加藤 篤（ウイルス第三部）、網 康至（動物管理室）、落合雅樹（品質保証室）、和田昭仁（細菌第一部）]

### 7. BCG ワクチンの依頼検査項目の削減

ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチンのロットリリースにあたって依頼試験で実施している皮膚反応試験について、感染研での試験の実施の必要性を検討し、廃止した。[柴山恵吾、浜口 功・大隈 和（血液安全性研究部）、森川 茂・西條政幸（ウイルス第一部）、加藤 篤（ウイルス第三部）、網 康至（動物管理室）、落合雅樹（品質保証室）、和田昭仁（細菌第一部）]

## 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（注射用セフトラジジム：14 ロット）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（セフトロキシムプロキセチル錠：4 ロット／シロップ用：2 ロット）について力価試験（HPLC 定量法）、確認試験（IR 及び NMR 解析）を行い、検査結果を報告した。なお、注射剤の後発品 1 ロットの力価試験において、含量不足につき「不適合」と判定され、厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課薬事監視第二係に 3 月 5 日付で緊急に中間報告を行った。その他の収去ロットは全ての試験で「適合」と判定された。[近田俊文・松井真理・森茂太郎・山根一和・鈴木里和・南條友子・粕谷裕子（細菌第二部第一室）、荒川宜親（細菌第二部）、宮崎義継・村上裕子・石野敬子・石川 淳・金子幸弘（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]

## III. 標準品の整備並びに品質管理に関する業務研究

### 1. 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 5 品目 (新規 2 品目、サブ 3 品目) の評価、再評価が完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。なお、1 品目では純度試験 (紫外可視吸光度測定法) による品質評価試験も行った。[鈴木里和、松井真理、森茂太郎、山根一和、南條友子、粕谷裕子、近田俊文]

## 2. 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 10 品目 (新規 4 品目、サブ 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。更に、2001～2003 年度に品質評価した新規日局標準品 (12 品目) について、HPLC 法による定量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。[松井真理、森茂太郎、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 : 5 ロット

沈降破傷風トキソイド : 10 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 : 10 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 : 6 ロット

乾燥まむしウマ抗毒素 : 1 ロット

乾燥ジフテリアウマ抗毒素 : 1 ロット

抗破傷風人免疫グロブリン : 7 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) : 13 ロット

インフルエンザ HA ワクチン (季節型) : 70 ロット

インフルエンザ HA ワクチン (新型) : 76 ロット

人血清アルブミン : 295 ロット

加熱人血漿たん白 : 20 ロット

肺炎球菌ワクチン : 20 ロット

沈降 7 価肺炎球菌結合型ワクチン (無毒性変異ジフテリア毒素結合体) : 6 件

乾燥BCGワクチン (最終製品) : 17 ロット

乾燥BCG膀胱内用 (日本株) (最終製品) 80mg : 3 ロット

ト  
乾燥BCG膀胱内用 (日本株) (最終製品) 40mg : 3 ロット

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) : 15 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 μg) : 1 ロット

精製ツベルクリン一般診断用 (一人用) : 8 ロット

経口生ポリオワクチン : 1 ロット

### 2. 国家検査 (行政検査) の実績

#### (1) 薬剤耐性菌関係

福岡市内の医療機関において *Acinetobacter baumannii* の院内感染疑いについて、福岡市長から細菌行政検査の依頼を受けた。30 株の多剤耐性 *A. baumannii* はすべて PFGE によるタイピング解析で同一もしくは非常に類似したバンドパターンを示した (cluster B)。これらの菌株は 2008 年から 2009 年にかけて大学病院に関連して分離されており、特定の株に由来する同じ遺伝的背景を有する菌株が患者間で伝播したこと強く示唆する結果であった。1～2 剤耐性の *A. baumannii* のうち、cluster A, cluster C に分類された株が示すように、2005 年～2007 年、2009 年に大学病院救命センターの複数の入院患者から類似したバンドパターンを示す株が分離されており、これら 1～2 剤耐性の *A. baumannii* も多剤耐性菌同様に患者間で伝播していたと思われる。Sporadic と分類された感性の *A. baumannii* や一部の 1～2 剤耐性の *A. baumannii* は個々に異なるバンドパターンであり、これらの株が患者間で伝播したことを否定する所見であった。(細菌行政検査 : 第 87152 号、第 87153 号、第 87157 号) [鈴木里和、松井真理、近田俊文、荒川宜親]

#### (2) ジフテリア関係

ア) 平成 21 年 8 月 21 日福島県衛生研究所から、ジフテリア疑患者の咽頭スワブと血清 1 本について、ジフテリアの検査依頼を受けた。検査の結果、ジフテリア菌、ジフテリア毒素遺伝子及び毒素は検出されず、血中ジフテリア抗毒素価は、0.371 IU/ml であった。(細菌行政検査 : 第 97041 号、第 97052 号) [小宮貴子、高橋元秀]

イ) 平成 21 年 11 月 6 日愛媛県立衛生環境研究所から、ネコ由来 1 菌株 (羊血液寒天培地 1 枚) について、ウルセランスの検査依頼を受けた。検査の結果、菌株は、ジフテリア毒素原性陽性の *C. ulcerans* と同定された。この菌株のグリコーゲン分解能は非常に低く、アピコリネ同定試験では「*C. pseudotuberculosis*」の可能性が高いと出

## 細菌第二部

たが、追加試験として、トレハロース試験、*rpo B* 遺伝子検査、PFGE を行った結果、*C. ulcerans* と最終同定された。(細菌行政検査：第 97085 号) [小宮貴子、高橋元秀]

ウ)平成 22 年 1 月 15 日愛媛県立衛生環境研究所から、イヌ由来 1 菌株、ネコ由来 3 菌株 (羊血液寒天培地 4 枚) について、ウルセランスの検査依頼を受けた。検査の結果、4 菌株は全て、ジフテリア毒素原性陽性の *C. ulcerans* と同定された。この 4 菌株のグリコーゲン分解能は非常に低く、アピコリネ同定試験では「*C. pseudotuberculosis*」の可能性が高いと出たが、追加試験として、トレハロース試験、*rpo B* 遺伝子検査、PFGE を行った結果、*C. ulcerans* と最終同定された。(細菌行政検査：第 97107 号) [小宮貴子、高橋元秀]

### (3) 破傷風関係

ア)平成 21 年 4 月 2 日付で、久留米市から患者創傷部か皮及び膿からの菌分離及び患者血清中の破傷風毒素の検出及び抗破傷風毒素抗体価の測定の依頼を受けた。患者創部及び膿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限度以下であった。また、患者血清には破傷風毒素も抗破傷風毒素抗体も検出限度以下であった。(細菌行政検査：第 97003 号) [山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀]

イ)平成 21 年 8 月 3 日付で、高知県衛生研究所から破傷風毒素の検出及び抗破傷風抗体価の測定の依頼を受けた。患者血清には破傷風毒素も抗破傷風毒素抗体も検出限度以下であった。(細菌行政検査：第 97034 号) [山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀]

ウ)平成 21 年 10 月 27 日付で、福島県環境保健研究所より患者創傷部から分離された菌について、破傷風毒素原性試験の依頼を受けた。分離菌のクックドミート培養上清中には、破傷風毒素が検出された。(細菌行政検査：第 97074 号) [山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀]

### (4) ボツリヌス関係

平成 21 年 9 月 3 日付で、福山市保健所より乳児ボツリヌス症疑い患者の血清及び便中のボツリヌス毒素、菌検出検査依頼を受けた。検査の結果、患者の血清及び便中のボツリヌス毒素は検出限界以下であった。また、ボツリヌス菌も分離されなかった。(細菌行政検査：第 97065 号) [見理 剛、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) 5ロットについて実施した。[堀野敦子、森茂太郎、和知野純一、山根一和、柴山恵吾]

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)47ロットについて実施した。[堀野敦子、和知野純一、山根一和、森茂太郎、柴山恵吾]

### (6) 精製ツベルクリン関係

依頼検査として、精製ツベルクリンの試作品の力価試験を 3 ロットについて実施した。[和知野純一、持田恵子、堀野敦子、山根一和、柴山恵吾]

### (7) マイコプラズマ関係

千葉県よりマイコプラズマ肺炎後の髄膜炎起因菌についての検査依頼があり実施したが、結果は陰性であった。(細菌行政検査：第 97047 号) [堀野敦子、佐々木裕子]

### (8) *Clostridium difficile* 関係

*Clostridium difficile* 感染のアウトブレイクが認められた医療機関から、さいたま市健康科学研究センターを通じて糞便検体の解析が依頼され (平成 22 年 3 月 5 日、3 月 17 日)、*C. difficile* の分離培養、分離菌株の解析を行った。医療機関に対する感染管理指導に関して、さいたま市保健福祉局保健所に助言指導をした。(細菌行政検査：第 97125 号、第 97128 号) [加藤はる、加地千春、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江、荒川宜親]

## 3. 収去検査の実績

### (1) 抗生物質医薬品

注射剤 (注射用セフトラジジム) (力価試験、エンドトキシン試験) : 14 ロット

経口剤 (セフポドキシムプロキセチル錠) (力価試験) : 4 ロット

経口剤 (シロップ用セフポドキシムプロキセチル) (力価試験) : 2 ロット

## 4. 承認前検査及び抜取検査等の実績

(1) 無菌試験 : 12 件 (抜取 8 件、依頼 4 件)

(2) 沈降新型インフルエンザワクチン (H5N1) 原液 : 1 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 (94 品目) : 計 930 本

抗生物質試験用菌株 (1 品目) : 1 本

## 細菌第二部

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：40本  
参照沈降ジフテリアトキソイド(混合ワクチン用)：83本  
標準ジフテリア抗毒素：13本  
参照ジフテリア抗毒素(フロキュラシオン用)：38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)：5本  
ジフテリア試験毒素(培養細胞法用)：29本  
シック試験毒素(動物用)：7本  
標準破傷風トキソイド：17本  
標準沈降破傷風トキソイド：71本  
参照破傷風トキソイド(混合ワクチン用)：33本  
標準破傷風抗毒素：10本  
参照破傷風抗毒素(フロキュラシオン用)：48本  
破傷風試験毒素：31本  
はぶ試験毒素(出血Ⅰ)：10本  
はぶ試験毒素(出血Ⅱ)：15本  
標準まむし抗毒素：2本  
標準ボツリヌスA型抗毒素：5本  
標準ボツリヌスB型抗毒素：3本  
標準ボツリヌスE型抗毒素：3本  
標準ボツリヌスF型抗毒素：3本  
標準百日せきワクチン：47本  
参照百日せきワクチン(毒性試験用)：73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：60本  
BCG Tokyo172-1：12本

### (2) 分与実績

標準ジフテリア抗毒素：大阪府立大学大学院、ミロクメディカルラボラトリー：各1本  
ジフテリア抗毒素(エレク用)：ミロクメディカルラボラトリー：2本  
ジフテリア試験毒素(培養細胞法用)：大阪府立大学大学院、ミロクメディカルラボラトリー：各2本  
VERO細胞：大阪府立大学大学院：1本  
*Corynebacterium diphtheriae* PW 8：大分県衛生環境研究センター、大阪府立大学大学院、栃木県保健環境センター、富山県衛生研究所、愛媛県立衛生環境研究所、ミロクメディカルラボラトリー：各1本  
*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、栃木県保健環境センター、愛媛県立衛生環境研究所、富山県

衛生研究所、山口県保健環境センター、石川県保健環境センター、徳島県保健環境センター：各1本

*Corynebacterium diphtheriae* (ジフテリア毒素非産生株)：ミロクメディカルラボラトリー：1本

ボツリヌス毒素検出・診断用ガス壊疽抗毒素(*C. perfringens*、*C. septicum*、*C. oedematiens*)、ボツリヌス毒素検出・診断用破傷風抗毒素：国内15ヶ所のボツリヌスリファレンスセンター：各5本

## 6. 依頼試験等の実績

### (1) ジフテリア関係

ア)平成21年5月～7月、九州地方(宮崎、熊本等)から、猟犬の血清177本、猟犬スワブ43本、猟犬由来ダニ5匹について、ウルセランスの検査依頼を受けた。検査の結果、猟犬血清177本中21本からジフテリア抗毒素が検出された。猟犬スワブは、菌及びジフテリア毒素原性とも全て陰性であった。猟犬由来ダニからは、*C. urealyticum*、*C. propinquum*、*Rhodococcus spp.*、*Aureobacterium spp.*、*Arthrobacter spp.*が分離されたが、*C. ulcerans*は検出されなかった。またジフテリア毒素遺伝子及び毒素も検出されなかった。[小宮貴子、高橋元秀]

イ)平成21年10月14日、大阪府立公衆衛生研究所から、九州地方の猟犬由来菌株2本(ゼラチンディスク)について、ウルセランスの検査依頼を受けた。2菌株とも、アピコリネコード0111326、%ID 99.7%の*C. ulcerans*と同定され、ジフテリア毒素原性は陽性であった。PEGEの結果、2菌株は同じタイプであった。[小宮貴子、高橋元秀]

ウ)平成21年8月6日と平成22年10月26日に、カンボジアから、ヒト咽頭スワブ合計6本と血清2本について、ジフテリア検査依頼を受けた。全検体から菌は検出されず、ジフテリア毒素原性も陰性であった。血中ジフテリア抗毒素価は、0.0814 IU/mlと、0.163 IU/mlであった。[小宮貴子、高橋元秀]

エ)平成21年7月～10月、DTaP追加接種臨床試験(DT接種時期におけるDTaP接種の安全性と免疫原性の検討会)のジフテリア抗毒素調査のため、国内9病院からヒト血清537本のジフテリア抗毒素価を測定した。[小宮貴子、高橋元秀]

オ)平成21年10月7日、14日、21日に静岡県小川動物病院から、ネコ由来菌株1本、スワブ2本、血清1本、環境調査材料のスワブ7本について検査依頼を受けた。ネコ由来菌株及びスワブから、アピコード0111326、%ID 99.7%の*C. ulcerans*が分離同定された。3菌株のジフテリア毒素原性は、陽性であり、PFGEの結果、同じタイプ

であった。血中ジフテリア抗毒素価は、0.552 IU/ml であった。[小宮貴子、高橋元秀]

カ) 平成 21 年 10 月 15 日、大分県衛生環境研究センターから、イヌ由来 5 菌株について、ウルセランスの検査依頼を受けた。全菌株とも、ジフテリア毒素原性陽性の *C. ulcerans* (アピコリネコード 0111326、%ID 99.7%) であった。PFGE の結果、全て同じタイプであった。[小宮貴子、高橋元秀]

キ) 平成 21 年 10 月 29 日と 12 月 18 日、埼玉県動物園から、サル咽頭スワブ 65 本、血清 126 本について、ウルセランスの検査依頼を受けた。全検体から、菌は検出されず、ジフテリア毒素原性も陰性であった。血中ジフテリア抗毒素は、2 検体から検出され、抗毒素価は、0.0255 IU/ml と 0.0360 IU/ml であった。[小宮貴子、高橋元秀]

ク) 平成 21 年 11 月 11 日、岡山県環境保健センターから、ネコ由来 5 菌株について検査依頼を受けた。5 菌株全て、ジフテリア毒素原性陽性の *C. ulcerans* (アピコード 0111326、%ID 99.7%) であった。この 5 菌株のグリコーゲン分解能は非常に低く、アピコリネ同定試験では *C. pseudotuberculosis* の可能性が高いと出たが、追加試験でトレハロース試験、*rpo B* 遺伝子検査、PFGE を行った結果、*C. ulcerans* と最終同定された。[小宮貴子、高橋元秀]

ケ) 平成 21 年 11 月 12 日、新潟県信楽園病院から、患者由来 1 菌株について、ジフテリアの検査依頼を受けた。菌株は、ジフテリア毒素陰性の *C. diphtheriae* バイオタイプ *mitis* 型 (アピコリネコード 0010324、%ID 99.4%) であった。この患者で、新潟県では 4 例目の症例となった。[小宮貴子、高橋元秀]

コ) 平成 22 年 2 月 26 日、新潟県信楽園病院から、患者由来 1 菌株 (羊血液寒天培地 1 枚) について、ジフテリアの検査依頼を受けた。菌株は、ジフテリア毒素陰性の *C. diphtheriae* バイオタイプ *mitis* 型 (アピコリネコード 0010324、%ID 99.4%) であった。この患者で、新潟県 5 例目となった。PFGE の結果、2、3、4 例目の菌株が同じタイプであった。[小宮貴子、高橋元秀]

サ) 平成 22 年 1 月 21 日と 2 月 25 日に、国立国際医療センター (平成 21 年度国際医療研究委託研究費 (21 指 9) の一環) から、海外渡航者のペアー血清 56 本について、ジフテリア抗毒素価測定依頼を受け測定を行った。[小宮貴子、高橋元秀]

## (2) 破傷風関係

ア) 平成 21 年 3 月 10 日付で、武蔵野赤十字病院から

患者創部組織より菌分離と患者血清中の破傷風毒素の検出及び抗体価の測定の依頼を受けた。患者創部及び膿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限度以下であった。また、患者血清には破傷風毒素も抗破傷風毒素抗体も検出限度以下であった。[山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀]

イ) 平成 21 年 8 月 19 日付で、釜石病院より患者炎症滲出液より培養された菌液について破傷風菌検出について依頼を受けた。送付された菌液について試験したところ、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]

ウ) 平成 21 年 9 月 17 日付で、昭和伊南病院より患者より分離された菌について破傷風菌毒素検出について依頼を受けた。送付された分離菌には、破傷風毒素遺伝子を有せず、破傷風毒素も検出限度以下であった。[山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀]

## (3) ボツリヌス関係

平成 21 年 9 月 14 日付で、東京税関から鑑定嘱託された関税法違反嫌疑者から差し押さえた薬品について、検査した。その結果薬品は、ボツリヌス A 型毒素を乾燥したものであることと、各バイアル中の毒素量は表示単位を大幅に異なるものではないことを確認した。[見理 剛、山本明彦、岩城正昭、高橋元秀]

## 国際協力関係業務

### I. WHO 関連

1. WHO により進められている BCG ワクチンの基準の改定作業に参加し、日本の考え方を改定案に反映させた。WHO 本部で開催された会議に出席し、討議を行った (2009 年 9 月 22~23 日)。[柴山恵吾]

2. WHO の Collaborating Centre for Research and Reference Service for Immunological and Biological Products の活動として、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイドの国際標準品の設定、百日咳ワクチンのシードの characterization 等を実施した。[岩城正昭、高橋元秀、蒲地一成、柴山恵吾、荒川宜親]

3. WHO の Informal Consultation on aP, DTwP, HepB and Combination Vaccines に、WHO からの招請状を得て参加し討議を行なった (2009 年 11 月)。[岩城正昭]

### II. JICA 関連

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（2009年11月）。[高橋元秀、岩城正昭、蒲地一成、佐々木裕子]

2. JICA 国別研修 中国ワクチン予防可能感染症サーベイランス及びコントロール（VPD）プロジェクトにおいて、ワクチンの検定について講義した（2009年11月）。[岩城正昭]

### Ⅲ. 研修関連

1. ベトナムの The Company for Vaccine and Biological Production No.1 より2名の研修生が来日し、ヘモフィルス b 型（Hib）ワクチンの品質管理（異常毒性否定試験、エンドトキシン試験、多糖含量試験等）に関わる研修を行った（2009年11月24-26日）。[佐々木裕子、木村幸司、加藤はる、荒川宜親、持田恵子、益見厚子（血液・安全性研究部）]

2. 中国・武漢生物製品研究所の品質管理担当者（Yang Xiaoming 所長、以下8名）に対して、第三室の品質管理業務について講義・説明を行なった（2009年7月）。[岩城正昭、小宮貴子、山本明彦、見理 剛、高橋元秀]

3. 台湾 BFDA の Dr. Chang-Wen Chi 研修生に対してジフテリア抗毒素製剤の品質管理の技術研修を実施した（2009年7月）。[山本明彦、見理 剛、高橋元秀]

4. 台湾 CDC 所属の Dr. Kuang-Lo Chen に対して、ボツリヌス菌病原体診断と抗毒素製剤の品質管理法の研修を約2週間実施した（2009年11月）。[見理 剛、山本明彦、高橋元秀]

### Ⅳ. 講義等関連

1. 大阪大学感染症国際研究拠点プロジェクト推進のために、大阪大学微生物病研究所長の要請により、タイ NIH における共同研究・開発の協議および指導のために出張した（2009年7月）。[高橋元秀]

2. 台湾 Bureau of Food and Drug Analysis（BFDA）の招聘依頼を受けて、ジフテリア毒素の品質管理および生物学的製剤の品質管理に用いる実験動物の関わりについて講演した（2009年8月）。[高橋元秀]

3. 米国カリフォルニアで開催された Interagency Botulism Research Coordinating Committee に参加し、複合

筋活動電位測定によるボツリヌス毒素中和抗体価の定量化学法を発表した（2009年9月）。[見理 剛、高橋元秀]

4. 米国カリフォルニアで開催された Interagency Botulism Research Coordinating Committee に参加し、国内のボツリヌス抗毒素の供給体制と品質管理の現状について講演した（2009年9月）。[高橋元秀]

5. ラトビア共和国リガ市で行なわれたジフテリア国際ネットワーク DIPNET の2009年ミーティングに出席し、日本における *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および同菌の感染症に関する最新の情報を収集した（2009年10月）。[岩城正昭]

## 研修業務

### Ⅰ. 薬剤耐性菌に関する研修

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（4名）に対し実習コースを実施した（2009年10月5-9日）。[山根一和、松井真理]

### Ⅱ. *Clostridium difficile* に関する研修

医療機関の検査技師や地方衛生研究所職員を対象として、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

第30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（2009年7月）。[高橋元秀]

### Ⅳ. 生物学的製剤の品質保証に関する研修

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（受講者31名）において、生物学的製剤の品質保証の現状について講義及び査察演習引率を行った（2009年6月）。[高橋元秀、佐々木裕子、加藤はる]

## その他

### Ⅰ. 行政科学等に対する対応

1. 独立行政法人医薬品医療機器総合機構からの依頼により、専門委員としてメーカーへの GMP 査察に同行し

調査を行った。[柴山恵吾]

2. 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 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]

3. 日本薬局方の生物試験法委員会に関する活動：生物試験法委員として、委員会に出席した。[加藤はる]

4. 日本薬局方エンドトキシン標準品評価委員会に評価委員として出席した。[蒲地一成]

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。[高橋元秀]

6. 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」の改正作業を行なった（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）。[佐々木裕子、他指針作成委員]

7. 病原体等の登録・保管・輸送・廃棄に関する一括管理システムの開発と検証班にて、この一括管理システムの具体的な運用の可能性を探るためにボツリヌス菌の管理について実証実験を行った（厚生労働科学研究費補助金：新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）。[山本明彦]

8. 新型インフルエンザワクチン株の製造施設（9号棟）稼働準備において、微生物管理に関する衛生管理基準作成に携わった。[佐々木裕子、他稼働準備委員]

## 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、山根一和、鈴木里和、松井真理、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. *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]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

1) Kato H, Kato H, Nakamura M, Iwashima Y, Nakamura A, and Ueda R.: Rapid analysis of *Clostridium difficile* strains recovered from hospitalized patients by using the *slpA* sequence typing. J Infect Chemother, 15: 199-202, 2009.

2) Kuroda M, Katano H, Nakajima N, Tobiume M, Aina A, Sekizuka T, Hasegawa H, Tashiro M, Sasaki Y, Arakawa Y, Hata S, Watanabe M, and Sata T.: Characterization of quasispecies of pandemic 2009 Influenza A virus (A/H1N1/2009) by De Novo sequencing using a next-generation DNA sequencer. PloS One 5; e10256, doi: 10.1371/journal.pone. 0010256, 2010.

3) Kimura K, Wachino, J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Shibata S, and Arakawa Y.: Practical disk diffusion test for detecting group B streptococcus with reduced penicillin susceptibility. J Clin Microbiol, 47: 4154-4157, 2009.

4) Nagano N, Kimura K, Nagano Y, Yakumaru H, and Arakawa Y.: Molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility recurrently isolated from a sacral decubitus ulcer. J Antimicrobial Chemother, 64: 1326-1328, 2009.

5) Honma Y, Yoshii Y, Watanabe Y, Aoki N, Komiya T, Iwaki M, Arai H, Arakawa Y, Takahashi M, and Kimura H.: A Case of Afebrile Pneumonia Caused by Non-Toxigenic *Corynebacterium diphtheriae*. Jpn J Infect Dis, 62 (4): 327-329, 2009.

6) Katsukawa C, Kawahara R, Inoue K, Ishii A, Yamagishi H, Kida K, Nishino S, Nagahama S, Komiya T, Iwaki M, and 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.

7) Hall AJ, Cassiday PK, Bernard KA, Bolt F, Steigerwalt AG, Bixler D, Pawloski LC, Whitney AM, Iwaki M, Baldwin A, Dowson CG, Komiya T, Takahashi M, Hinrikson AP, and Tondella ML.: A Novel *Corynebacterium diphtheriae* Isolated from Domestic Cats (*Felis catus*). Emerg Infect Dis, 16 (4):

688-691, 2010.

- 8) Horino A, Kenri T, Sasaki Y, Okamura N, and Sasaki T.: Identification of a site-specific tyrosine recombinase that mediates promoter inversions of phase-variable *mpl* lipoprotein genes in *Mycoplasma penetrans*. *Microbiology*, 155: 1241-1249, 2009.
- 9) Kataoka M, Yamamoto A, Ochiai M, Harashima A, Nagata N, Hasegawa H, Kurata T, and Horiuchi Y.: Comparison of acellular pertussis based combination vaccines by Japanese control tests for toxicities and laboratory models for local reaction. *Vaccine*, 27: 1881-1888, 2009.
- 10) Kawamura-Sato K, Yoshida R, Shibayama K, and Ohta M.: Virulence genes, quinolone and fluoroquinolone resistance, and phylogenetic background of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated in Japan. *Jpn J Infect Dis*, 63 (2): 113-5, 2009.
- 11) Mori S, Shibayama K, Wachino J, and Arakawa Y.: Crystallization and preliminary X-ray analysis of the diadenosine 5',5'''-P<sub>1</sub>,P<sub>4</sub>-tetrphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Acta Crystallogr*, F66: 279-281, 2010.
- 12) Mori S, Shibayama K, Wachino J, and Arakawa Y.: Purification and molecular characterization of a novel diadenosine 5',5'''-P(1),P(4)-tetrphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Protein Expr Purif*, 69: 99-105, 2010.
- 13) Kamachi K, Fukuda T, Han HJ, Toyozumi-Ajisaka H, Mochida K, Konda T, Horiuchi Y, Arakawa Y, and DPT technical committee of the association of biological manufactures of Japan.: Genetic verification of *Bordetella pertussis* seed strains used for production of Japanese acellular pertussis vaccines. *Biologicals*, 38: 290-293, 2010.
- 14) Kamano H, Mori T, Maeta H, Taminato T, Ishida T, Kishimoto N, Katami T, Sato M, Kamachi K, and Mochida Y.: Analysis of *Bordetella pertussis* agglutinin titers during an outbreak of pertussis at a university in Japan. *Jpn J Infect Dis*, 63: 108-112, 2010.
- 15) Sakamoto T, Torii Y, Takahashi M, Ishida S, Goto Y, Nakano H, Harakawa T, Ginnaga A, Kozaki S, and Kaji R.: Quantitative determination of the biological activity of botulinum toxin type A by measuring the compound muscle action potential (CMAP) in rats. *Toxicon*, 54: 857-861, 2009.
- 16) Torii Y, Goto Y, Takahashi M, Ishida S, Harakawa T, Sakamoto T, Kaji R, Kozaki S, and Ginnaga A.: Quantitative determination of biological activity of botulinum toxins

utilizing compound muscle action potentials (CMAP), and comparison of neuromuscular transmission blockage and muscle flaccidity among toxins. *Toxicon*, 55: 407-414, 2010.

17) Torii Y, Takahashi M, Ishida S, Goto Y, Nakahira S, Harakawa T, Kaji R, Kozaki S, and Ginnaga A.: Quantification of potency of neutralizing antibodies to botulinum toxin using compound muscle action potential (CMAP). *Toxicon*, 55: 662-665, 2010.

## 2. 和文発表

- 1) 山根一和、荒川宜親:メチシリン耐性黄色ブドウ球菌。成人病と生活習慣病, 39 (12): 1292-1299, 2009.
- 2) 山根一和、荒川宜親:院内感染で問題となる薬剤耐性菌の最近の研究動向。麻酔, 59 (1): 4-16, 2010.
- 3) 山根一和、鈴木里和、筒井敦子、荒川宜親:厚生労働省院内感染対策サーベイランスについて その経緯と概要。日本外科感染症学会雑誌, 7 (1): 23-28, 2010.
- 4) 里村秀行、尾高郁子、酒井力、加藤はる: *Clostridium perfringens* による抗菌薬関連下痢症の1症例。日本感染症学雑誌, 83 (5): 549-551, 2009.
- 5) 加藤はる: *Clostridium difficile* 感染症について。日本病院薬剤師会雑誌, 45 (7): 897-902, 2009.
- 6) 加藤はる: シリーズ/微生物の検査診断 12. クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*) 感染症の細菌学的診断検査。化学療法の領域, 25 (11): 2213-2221, 2009.
- 7) 佐々木裕子: マイコプラズマ抗原の特徴とワクチン開発の課題。日本マイコプラズマ学雑誌, 36: 88-90, 2009.
- 8) 岩城正昭: 海外における破傷風情報。病原微生物検出情報, 30 (3): 70-71, 2009.
- 9) 落合雅樹、山本明彦、堀内善信: 血液製剤に対するエンドトキシン試験法の適用と基準化。エンドトキシン研究, 12: 93-97, 2009.
- 10) 和知野純一、荒川宜親: 薬剤感受性測定法と耐性菌『多剤耐性緑膿菌』。臨床と微生物, 増刊号, 36: 115-122, 2009.
- 11) 和知野純一: 臨床分離病原細菌において新たに発見された薬剤耐性の分子機構。日本細菌学雑誌, 64: 357-364, 2009.
- 12) 蒲地一成: 感染症動向 2010, 百日咳。メディカル朝日, 39: 42-44, 2010.
- 13) 蒲地一成: 百日咳毒素と分泌機構。化学療法の領域, 25: 21-27, 2009.
- 14) 近田俊文 (抗生物質委員会): 第十五改正日本薬局方第二追補 (医薬品各条・抗生物質 29 項目)。厚生労働省,

2009.

## II. 学 会 発 表

### 1. 国際学会

- 1) Tsutsui A, Suzuki S, Yamane K, Matsui M, Konda T, and Arakawa Y.: Genotype shift in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) during a persistent nosocomial outbreak. 49<sup>th</sup> ICAAC, September 2009, San Francisco, USA.
- 2) Kato H, Ito Y, and Arakawa Y.: A rapid and simple identification of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 by loop-mediated isothermal amplification method. 19<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, May 2009, Helsinki, Finland.
- 3) Sasaki Y, Nagata N, Yamada K, Ami Y, Harashima A, Suzaki Y, Miura H, Matsuda K, and Arakawa Y.: Establishment of *Mycoplasma fermentans*-inducing arthritis model in rabbit. 4<sup>th</sup> Academic congress of Asian Organization for mycoplasmaology, November 2009, Taiwan.
- 4) Kimura K, Nishiyama Y, Shimizu S, Wachino J, Suzuki S, Yamane K, and Arakawa Y.: Screening for group B streptococcus with reduced penicillin-susceptibility among clinical isolates during 1977 to 2005. 49<sup>th</sup> ICAAC, September 2009, San Francisco, USA.
- 5) Iwaki M, Ishiwa A, Komiya T, Arakawa Y, and Takahashi M.: *Corynebacterium diphtheriae* vaccine strain PW8 retains most of PAIs but shows largely reduced signs of pathogenicity. 14<sup>th</sup> European Workshop Meeting on Bacterial Protein Toxins (ETOX14), June 2009, Obernai, France.
- 6) Komiya T, Yamamoto A, Iwaki M, Kenri T, Noguchi Y, Tsunoda A, Arakawa Y, and Takahashi M.: A human *C. ulcerans* case: isolation of the pathogen from the patient and from cats. 11<sup>th</sup> International Meeting of the European Laboratory Working Group on Diphtheria (ELWGD) & 3<sup>rd</sup> Annual Meeting of Diphtheria Surveillance Network (DIPNET), October 2009, Riga, Latvia.
- 7) Iwaki M, Ishiwa A, Komiya T, Nagata N, Arakawa Y, and Takahashi M.: *Corynebacterium diphtheriae* C7(-) and PW8 strains: genome diversity and pathogenicity. 11<sup>th</sup> International Meeting of the European Laboratory Working Group on Diphtheria (ELWGD) & 3<sup>rd</sup> Annual Meeting of Diphtheria Surveillance Network (DIPNET), October 2009, Riga, Latvia.
- 8) Wachino J, Yamane K, Suzuki S, Kimura K, Matsui M, and Arakawa Y.: Identification of Novel Plasmid-Mediated Fosfomycin Resistance Genes Among Clinically isolated

CTX-M-Producing *Escherichia coli*. 49<sup>th</sup> ICAAC, September 2009, San Francisco, USA.

### 2. 国内学会

- 1) 山根一和：薬剤耐性機序のトピックスと我が国における薬剤耐性菌の現状. 平成 21 年度中国地区感染制御部会研修会, 2009 年 10 月, 松江.
- 2) 筒井敦子、鈴木里和、山根一和、荒川宜親：バンコマイシン耐性腸球菌の効率的なスクリーニング方法に関する研究. 第 83 回日本感染症学会総会, 2009 年 4 月, 東京.
- 3) 加藤はる、赤羽貴行、里村秀行、酒井 力、中村 敦、加藤秀章、岩島康仁、伊藤陽一郎、横山敏之、荒川宜親：日本の医療機関での binary toxin 遺伝子陽性 *Clostridium difficile* 臨床分離株について. 第 83 回日本感染症学会総会, 2009 年 4 月, 東京.
- 4) 里村秀行、尾高郁子、酒井 力、加藤はる：当センターにて検出された *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 による抗菌薬関連下痢症の 1 症例. 第 83 回日本感染症学会総会, 2009 年 4 月, 東京.
- 5) 里村秀行、尾高郁子、酒井 力、加藤はる：*Clostridium difficile* 菌株からの Toxin 検出の検討. 第 58 回東日本感染症学会地方会学術集会, 2009 年 10 月, 東京.
- 6) 加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症と細菌学的検査. 平成 21 年度地方衛生研究所東海北陸ブロック微生物部門専門家会議, 2009 年 10 月, 名古屋.
- 7) 加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症 -診断、治療、感染予防について-. 第 2 回新潟臨床微生物研究会, 2009 年 10 月, 新潟.
- 8) 岩島康仁、中村 敦、加藤秀章、脇本幸夫、塩田有史、加藤はる：毒素産生性および PCR ribotype による *Clostridium difficile* infection (CDI) の臨床像の比較検討. 第 52 回日本感染症学会中日本地方会学術集会, 2009 年 11 月, 名古屋.
- 9) 里村秀行、尾高郁子、福原麻后、加藤はる：*Clostridium difficile* 菌株による毒素産生能の疫学的調査への試み. 第 21 回日本臨床微生物学会総会, 2010 年 1 月, 東京.
- 10) 加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症について -たかが下痢なり、されど下痢なり-. 第 10 回市大センター病院感染症フォーラム（横浜市立大学附属市民総合医療センター）, 2010 年 1 月, 横浜.
- 11) 加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症と薬剤部の関わり. 第 31 回病院薬剤師会近畿学術大会 専門薬剤師分科会, 「感染制御領域」, 2010 年 1 月, 京都.
- 12) 加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症の現状と細菌学的検査における留意点. 平成 21 年度希少感染症診断技術

研修会, 2010年2月, 東京.

13) 加藤はる: Q and A レクチャー *Clostridium difficile* 感染症 -よくある質問から-. 第25回日本環境感染学会総会, 2010年2月, 東京.

14) 加藤はる: 入門編: *Clostridium difficile* 感染症. 第25回日本環境感染学会総会, 2010年2月, 東京.

15) 村端真由美、矢野久子、脇山直樹、三輪信彦、脇本幸夫、相楽弘文、加藤はる: 長期入院がん患児療養環境における *Clostridium difficile* 汚染. 第25回日本環境感染学会総会, 2010年2月, 東京.

16) 加藤はる: 教育講演 *Clostridium difficile* 感染症—変化する疫学と日本における現状—. 第40回日本嫌気性菌感染症研究会, 2010年3月, 東京.

17) 加地千春、加藤はる、鈴木 聡、若松由紀子、中嶋知子、庄司知摩、荒川宜親: *Clostridium difficile* 感染症院内アウトブレイク事例における分子疫学的検討. 第40回日本嫌気性菌感染症研究会, 2010年3月, 東京.

18) Sasaki Y, Nagata N, Ami Y, Suzaki Y, Matsuda M, and Arakawa Y: Formation of lymphoid follicles induced by *Mycoplasma fermentans* in rabbit arthritis model. 第83回日本細菌学会総会, 2010年3月, 横浜.

19) 佐々木裕子: マイコプラズマ抗原の特徴とワクチン開発の課題. 第36回日本マイコプラズマ学会学術集会, 2009年6月, 北海道.

20) 木村幸司、長野則之、長野由起子、荒川宜親: ペニシリン低感受性B群連鎖球菌 (PRGBS) の遺伝学的背景に関する解析・Genetic background of Group B *Streptococcus* with reduced penicillin susceptibility, PRGBS. 第83回日本細菌学会総会, 2010年3月, 横浜.

21) 笥 紘子、山岡明子、大竹 明、雨宮 伸、木村幸司、荒川宜親、山崎 勉、上原すゞ子: 生後6ヶ月でB群溶血性連鎖球菌による髄膜炎を発症した母子感染例. 第41回日本小児感染症学会総会, 2009年11月, 福井.

22) 北澤克彦、本多昭仁、前本達男、松本 弘、小林宏伸、荒畑幸絵、小暮裕之、小林 匡、高野稔明、中村文人、木村幸司、荒川宜親: 慢性 ITP に対するステロイド治療中に GBS による敗血症を発症した 10 歳女児. 第 41 回日本小児感染症学会総会, 2009 年 11 月, 福井.

23) 木村幸司、石田香志枝、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57回日本化学療法学会総会, 2009年6月, 東京.

24) 木村幸司、矢越美智子、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83回日本感染症学会総会, 2009年4月, 東京.

25) 福田 靖、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀: 市販乾燥ヘモフィルスb型ワクチン(破傷風トキソイド結合体)(Hib)の破傷風トキソイド力価. 第13回日本ワクチン学会学術集会, 2009年9月, 札幌.

26) 福田 靖、高橋元秀、荒川宜親、中島秀喜: Hib と DPT の同時接種と混合接種の違いによる破傷風抗体誘導の一考察. 第67回神奈川県感染症医学会, 2010年3月, 横浜.

27) 木田兼以、山本明彦: *Clostridium tetani* を分離し得た破傷風症例. 第83回日本感染症学会総会, 2009年4月, 東京.

28) 山本明彦、岩城正昭、小宮貴子、見理 剛、荒川宜親、高橋元秀: 抗破傷風人免疫グロブリンの力価定量法の改善. 第13回日本ワクチン学会学術集会, 2009年9月, 札幌.

29) 落合 雅樹、山本 明彦、片岡紀代、堀内 善信、荒川宜親: Development of alternative assay to the histamine sensitization test for acellular pertussis vaccine. 第13回日本ワクチン学会学術集会, 2009年9月, 札幌.

30) 入江由美、岡 真起子、山本明彦、高橋元秀: 瘡蓋より分離された破傷風の一例. 第42回中国四国医学検査学会総会, 2009年11月, 高松.

31) 石和玲子、岩城正昭、荒川宜親、高橋元秀: ラクトース結合中空糸に対するB型ボツリヌス毒素複合体の吸着. 第83回日本細菌学会総会, 2010年3月, 横浜.

32) 柴山恵吾: *Helicobacter pylori* のアスパラギナーゼの生理病理的機能の解析. 第15回日本ヘリコバクター学会学術集会, 2009年6月, 東京.

33) 和知野純一、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親: アミノ配糖体耐性を付与する 16S rRNA methyltransferase NpmA の X 線結晶構造解析. 第83回日本細菌学会総会, 2010年3月, 横浜.

34) 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83回日本細菌学会総会, 2010年3月, 横浜.

35) 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'''-P1, P4-tetraphosphate 加リン酸分解酵素の結晶構造解析. 日本農芸化学会 2010 年度大会, 2010 年 3 月, 東京.

36) 大塚菜緒、蒲地一成、豊泉裕美、中村幸嗣、齋藤良一、荒川宜親: 百日咳菌における定着因子 Prn の欠損機構. 第83回日本細菌学会総会, 2010年3月, 横浜.

37) 蒲地一成: 分子疫学から見た百日咳流行株の細菌学的特性. 第83回日本細菌学会総会, 2010年3月, 横浜.

38) 蒲地一成、豊泉裕美、中村 敦、中島夏樹、石川 隆、多屋馨子、荒川宜親、岡部信彦、岡田賢司：咳嗽成人患者を対象とした百日咳保菌率調査. 第 83 回日本感染症学会総会, 2009 年 4 月, 東京.

39) 松尾里沙、中根大介、見理 剛、宮田真人：*Mycoplasma pneumoniae* 滑走接着器官の電子顕微鏡による構造観察. 第 83 回日本細菌学会総会, 2010 年 3 月, 横浜.