

## 4. 細菌第一部

部長 大西 真

### 概要

当部では、多様な病原細菌に対する菌種内多様性の解析、病原機構の解明、新規検査法の開発に関する研究を行ってきている。また、肺炎球菌ワクチン、7 価肺炎球菌コンジュゲートワクチン、13 価肺炎球菌コンジュゲートワクチンの検定検査、4 価髄膜炎菌コンジュゲートワクチンの承認前検査、梅毒体外診断薬の承認前試験を担当するとともに、多様な病原細菌に対する行政検査あるいは依頼検査、レファレンス活動、病原体サーベイランスに係る業務を担当した。

感染症法の発生動向調査において H25 4 月より、侵襲性肺炎球菌感染症が加わり、さらに髄膜炎菌感染症に関しては髄膜炎のみから、血流感染症を加えた侵襲性髄膜炎菌感染症に修正された。これにより、侵襲性肺炎球菌感染症の実態と、髄膜炎よりも時に重篤な経過を示す敗血症性髄膜炎菌感染症の実態把握が可能となった。両感染症は一部の血清型に関してはワクチンによる予防も可能であることから、血清型別に関して感染研の果たす役割が増す。肺炎球菌に関しては、7 価ワクチンに含まれない多糖体からなる莢膜を産生する肺炎球菌、特に 19A 型、による侵襲性感染症の増加してきた。19A 型多糖を含む 13 価ワクチンが H25 年に導入されたため、19A 型肺炎球菌侵襲性感染症の減少が期待されると同時に、他の血清型による症例が増加することが危惧される。今後も原因菌株の動向を注視する必要がある。髄膜炎菌感染症に関しても、症例数は欧米諸国に比べ少ないことが再確認されるとともに、死亡症例がこれまでより多いことが示された。

ボレリア感染症に関し、新興回帰熱感染例の遡及調査をライム病/ライム病疑い患者血清を用いて行なった結果、国内において新興回帰熱（ボレリア・ミヤモトイ感染症）が潜在することを示した。

腸管出血性大腸菌感染症の制御が困難な現状において、分離株間の同一性解析、さらには過去に分離された菌株との比較解析等、地方自治体からの要請が増している。特に、地方自治体の検査機関において IS-printing による迅速な型別が普及してきた現状で、さらに詳細な型別を迅速に実施することが重要となってきた。また、血清

群 O157 以外の血清群の EHEC を含む溶血性尿毒症症候群の原因菌の同定のための検査系の開発および普及が重要な課題であり、精力的に進められた。

H25 年にはわが国においても *Borrelia muyamotoii* による回帰熱症例があることが明らかにされ、病原体診断法の確立と、レトロスペクティブな解析が実施され、本感染症の実態把握が進められた。また、病原体保有マダニの調査も進められリスク評価の基盤が確立しつつある。

劇症型溶血性連鎖球菌感染症、レジオネラ症、腸管出血性大腸菌感染症に関するレファレンス活動が進められた。薬剤耐性淋菌に関するサーベイランス等も進められ、感染症対策における基盤的情報の蓄積が進められている。

その他研究面においては、六室から構成される細菌第一部の各室が担当する細菌（腸管出血性大腸菌、サルモネラ、赤痢菌、腸チフス菌、ビブリオ等の腸管感染症原因菌、レジオネラ、レンサ球菌、肺炎球菌、ボレリア、髄膜炎菌、レプトスピラ、淋菌、梅毒スピロヘータ、口腔細菌等）の検査法の開発、分子疫学的手法の確立とその応用、薬剤耐性菌の疫学・耐性機序の解明、病原性因子の発現制御、菌と宿主との相互作用および感染過程の分子機構の解明を目指した研究を従来に引き続いて行った。

所内各部との共同研究、さらには地方衛生研究所、国内、国外（ベトナム、台湾、インド、フィリピン、スリランカ、中国、ラオス等）の研究機関との連携、共同研究も積極的に行なわれた。これらの共同研究や技術支援等でこれらの連携は当部の機能強化のために必須であり、さらなる協力体制を築いていく方向で進めていくことが重要である。

なお平成 25 年 7 月に寺嶋淳第一室長が、国立医薬品食品衛生研究所 部長として転任した。また、平成 25 年 4 月より石嶋希が任期付研究員として着任し、サルモネラならびに腸管出血性大腸菌の病原機構解明に関する研究に着手している。

## 業績

## 調査・研究

## I. 腸管感染症に関する研究

1. 腸管出血性大腸菌：EHEC（志賀毒素産生性大腸菌：STEC）に関する研究

## (1) 菌株の多様性解析と病原機構に関する研究

## ア 血清型別

平成 25 年に送付された STEC は総計 3,348 株で、このうち、ヒト由来の 3,282 株について分離頻度の高い O 血清群（分離数 10 以上のもの）は順に、O157（約 53.1%）、O26（約 24.6%）、O111（約 5.2%）、O103（約 4.2%）、O121（約 3.6%）、O145（約 3.5%）、O91（約 1.1%）、O156（約 0.4%）、O55（約 0.4%）、O165（約 0.3%）となった。その他の O 群（118 株：約 3.6%）は少なくとも 42 種類の O 血清群に分類された [伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、石原朋子、寺嶋淳[国立医食衛研]、大西真]。

## イ 健康者糞便由来 STEC の病原性因子の解析

健康者から分離される STEC の特徴を解析する目的で、業態者検便から分離された 400 株（検出率 0.08%）の志賀毒素遺伝子（*stx1 stx2*）および接着遺伝子（*eae, saa*）の保有状況を調べた。志賀毒素遺伝子を調べた結果、202 株が *stx1* 単独保有株、160 株が *stx2* 単独保有株、38 株が *stx1 stx2* 保有株であった。接着遺伝子を調べた結果、*eae* 保有株が 55 株、*eae* 非保有株に特異的に存在する *saa* 保有株が 125 株、いずれの接着遺伝子を保有しない株は 220 株であった。 [石原朋子、伊豫田淳、佐藤人美、佐藤寿夫（日本微生物研究所）、大西真]

## ウ EHEC の PFGE による DNA 型別

2013 年に国内で分離された EHEC O157 の 1465 株とその他の O 血清群 1171 株に対して、パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）を用いて解析を行った。O157 は *XbaI* 消化により 768 種類の PFGE 型が観察された。一方、6 つ以上の異なる都府県から分離された同一 PFGE 型として、Type No. (TN) d483、h406、g307、i28、i195 の 5 種類があった。O26 は *XbaI* 消化により 244 種類の PFGE 型が観察され、5 つ以上の異なる都府県から分離された同一 PFGE 型が 2 種類（TN i16、i110）あった。同一 PFGE 型の O157、O26 による広域発生事例の存在が明らかになった。 [石原朋子、寺嶋淳（国立医薬品食品衛生研究所）、齊藤康憲、菱谷愛、中島雪絵、高井信子、伊豫田淳、泉谷秀昌、大西真]

## エ EHEC O157 の Multiple-Locus VNTR Analysis に

## よる解析

PFGE により TN d483 を示す広域発生事例株を Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) 法で試験すると、いくつかのタイプが得られた。これらについて Minimum Spanning Tree を描くと、4 つの型（13m0117、13m0123、13m0128、13m0397）は互いに single locus variants (SLVs) であり、これらの株については近縁性が示唆された。一方、残りの型（13m0129、13m0130、13m0145、13m0148、13m0189）はそれらと 2 遺伝子座以上の距離があり、d483 を示す株には近縁性の低い MLVA 型を示す菌株が含まれることが示された。 [泉谷秀昌、石原朋子、寺嶋淳（国立医薬品食品衛生研究所）、齊藤康憲、菱谷愛、中島雪絵、高井信子、伊豫田淳、大西真]

## オ PFGE によるデータベース構築とその解析結果利用のネットワーク化に関する研究

全国の地方衛生研究所等（地研）から送付された分離株について PFGE 解析を行い、BioNumerics (BN) server によるオンラインシステムのデータベースの継続的な構築・運用を行った。EHEC O157 および O26 の PFGE 解析結果は、BN による系統樹作成に基づくサブタイプ名の付与と PFGE パターンのデータベース構築に使用した。 [石原朋子、寺嶋淳（国立医薬品食品衛生研究所）、中島雪絵、齊藤康憲、菱谷愛、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、大西真]

## (2) 検査法開発に関する研究

## ア 溶血性尿毒症症候群（HUS）発症者の血清診断

EHEC が不分離の HUS 症例では、患者血清中の大腸菌 O 抗原に対する抗体の検出（血清診断）などで確定診断となる。血清診断依頼があった 15 件中 O157 が 8 件、O121 が 3 件、O26、O103、O165、O76 は各 1 件ずつ陽性例があり（陽性率 86.7%；1 件については O157、O121、O26 同時陽性例 [下記参照]）、いずれも EHEC 感染による HUS 症例と確定した。血清診断陰性例のうち 1 件については同時に依頼があった便培養から EHEC O157:H7 を分離した [伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、石原朋子、齊藤剛仁（情報セ）、寺嶋淳、大西真]。

## イ EHEC O157、O121、O26 混合感染による HUS 症例の同定

上記の血清診断の結果から、抗大腸菌 O157、O121、O26 抗体が同時に陽性となる HUS 症例を見いだした。血清診断の結果を基に O157、O121、O26 抗体を感作させた磁気

ビーズを用いて便培養液から大腸菌の分離を試みたところ、EHEC O157, O121 と EPEC (*stx* 陰性) O26 がそれぞれ分離された。血清診断の結果を便培養法に還元した事例である。同様な手法を用いて EHEC O157, O121, O165 が分離された HUS 症例をそれぞれ明らかにした[伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、石原朋子、齊藤剛仁、大西真]。

#### ウ EHEC O76 感染による HUS 症例の同定

大腸菌 O 群全 184 種類中 182 種類は PCR によって検出が可能となっている (O-genotyping [井口ら、未発表])。主要 7 血清群による血清診断が陰性となった HUS 症例において、便培養液を用いて O-genotyping を行ったところ、*stx2* 陽性、O76 抗原遺伝子陽性となった。この結果を基に血清診断および菌分離 (ビーズ法による濃縮培養) を行ったところ、O76 抗体陽性と判明し、EHEC O76:H7 *stx2* が分離されたため、EHEC O76 による HUS 症例と確定した[伊豫田淳、井口純 [宮崎大・農]、高井信子、佐藤人美、石原朋子、齊藤剛仁、大西真]

## 2. 赤痢菌に関する研究

### (1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

#### ア 赤痢菌の分子疫学解析

2013 年に当研究所に送付された赤痢菌 81 株についてパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) および multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) による分子疫学解析を行った。昨年渡航歴のない散发事例において複数県にまたがって検出された MLVA 型 SsV12-033 が本年も 6 県にまたがり検出された。なお、*Shigella sonnei* では 2013 年に 38 の MLVA 型が新たに検出された。(泉谷秀昌、李志英、高井信子、大西真)

#### イ 赤痢菌の III 型分泌装置遺伝子群の転写後調節機構の解析

赤痢菌の病原性に必須な III 型分泌装置は、環境の温度と塩濃度によって発現が厳密に制御される。この制御を失う変異体をスクリーニングしたところ、III 型分泌装置遺伝子群のレギュレーターである InvE (VirB) の発現が翻訳レベルで増加する変異体が得られた。この変異遺伝子は後に、桿菌の桿状構造を形成するバクテリア細胞骨格蛋白 RodZ として同定されたが、赤痢菌の病原性の表現型は RodZ に細胞骨格以外の機能があることを示唆していた。

この *rodZ* 変異体では *invE* の mRNA の分解速度が遅く、mRNA が安定化していることが示された。また、精製した RodZ 蛋白は *invE*-RNA と強く結合することが分かった。

さらに、この RNA 結合能は RodZ の塩基性ドメイン部分に依存すること、RodZ 同士が多量体を形成すること、InvE 以外の mRNA にも結合することが示され、細胞骨格以外の RodZ の機能を明らかにした。(三戸部治郎)

## 3. サルモネラ属菌に関する研究

### (1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

#### ア チフス菌、パラチフス A 菌のフェージ型別

2013 年に国内で分離され、地方衛生研究所・保健所から送付されたチフス菌、パラチフス A 菌についてフェージ型別試験を行った。送付された菌株数はチフス菌 58 株、パラチフス A 菌 47 株であり、前年の菌株数と比べ増加していた。チフス菌では、フェージ型 E1 が多く、その他には A、B1、D2、E2 等が検出された。パラチフス A 菌ではフェージ型 1 が 23 株、2 が 13 株であったが、4、5、6 も検出された。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真]

#### イ チフス菌、パラチフス A 菌の各種抗菌薬に対する感受性試験

2013 年に国内で分離されたチフス菌、パラチフス A 菌の各種抗菌薬に対する感受性を検討した。ニューキノロン系薬剤 3 薬剤、第 3 世代セフェム系薬剤 2 剤、その他従来の治療薬等合計 16 剤を用いた。感受性試験の結果、ニューキノロン薬であるシプロフロキサシン非感受性菌の割合はチフス菌で 50.0%、パラチフス A 菌で 66.0%であった。また、第 3 世代セフェム系抗菌薬に耐性を示すパラチフス A 菌が 1 株検出された。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真]

#### ウ 国外渡航歴の無い腸チフス感染例由来菌株の分子疫学的解析

2013 年のチフス菌分離株数は、近年の分離株数に比べ大きく増加しており、特に国外渡航歴の無い腸チフス患者由来チフス菌の増加が顕著であった。分子疫学解析の結果、フェージ型では A もしくは B1 に分類されるものの、遺伝学的関連性の高い株を原因とする症例の集積が増加の要因であることが考えられた。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真]

#### エ サルモネラのフェージ型別

2013 年に当研究所にフェージ型別のために送付されたサルモネラ株は 181 株であった。うち 55 株は血清型 Enteritidis であり、フェージ型 6a が 31 株と大勢を占めた。

同じく Typhimurium は 5 株送付された。検出されたフェージ型 (DT) は、RDNC が 4 株、U302 が 1 株であった。(泉

谷秀昌、李志英、高井信子、大西真)

#### オ サルモネラの血清型別

2013年に当研究所で血清型別を行った菌株は11株であった。同定された血清型は、Weltevreden, I4:i:-, I7:c:-, IIIb 48:l,v:1,5,(7)などであった。(泉谷秀昌、李志英、高井信子、大西真)

#### カ *Salmonella* Infantis に関する研究

*S. Infantis* 株間で分布に差が見出された *irp2* 遺伝子の遺伝子の所在を次世代シーケンサーを使用して明らかにした。当該遺伝子は約280kbのプラスミド上に存在することが示された。当該プラスミドには *tet* などの薬剤耐性遺伝子も見出された。(泉谷秀昌、李志英、黒田誠、関塚剛史、大西真)

### 4. ビブリオ属細菌に関する研究

#### (1) 菌株の多様性および遺伝子水平伝播に関する研究

##### ア *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* の同定及び血清型別

平成25年度に同定、血清型別、生物型、遺伝子型別および病原因子の検索の依頼を受けた *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株は148株で *Vibrio cholerae* および *V. parahaemolyticus*、*V. fluvialis*、*Aeromonas* spp. が含まれ、108株は国内、40株は海外からの依頼であった。国内株の内1株は、食中毒由来 *V. parahaemolyticus* で既知のO:K組合せには該当しないO10:K60という新規の血清型であった。また国内2事例103株は、集団食中毒由来の *V. cholerae* non-01/non-0139 によるもので、共通食材として輸入ニシ貝が疑われ、残品からも同一O血清型菌が検出された。海外からの型別依頼株は中国の下痢症患者と環境からの分離株40株で、*V. cholerae* non-01/non-0139 および *V. parahaemolyticus*、*V. fluvialis*、*Aeromonas* spp. であった。

(荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌)

#### イ. NAG ビブリオの分子疫学解析

2013年9月から10月にかけてナグビブリオによる食中毒が相次いだ。当該事例に関連する患者及び食品由来株についてPFGEによる解析を行った。その結果、食品由来株は多様性を示したものの、患者株のほとんどは1つのクラスターを形成し、食品株の一部も当該クラスターに分類された。当該クラスターに属する株の血清型は患者株および食品株と一致し、O144であった。(泉谷秀昌、荒川英二、森田昌知、大西真)

#### ウ ビブリオ属菌の環境調査

沿岸海水を採取し、*Vibrio vulnificus*、*V. parahaemolyticus*、*V. cholerae* の分布状況を調べた。各地の平均から、3菌種とも8月に最も多く検出された。塩分濃度上昇に対する感受性は、概ね *V. parahaemolyticus*、*V. vulnificus*、*V. cholerae* の順となった。ビブリオ属菌の分布については、温度および塩分濃度によって異なる影響があることが示唆された。(泉谷秀昌、森田昌知、渡邊節(宮城県保健環境センター)、磯部順子(富山県衛生研究所)、緒方喜久代(大分県衛生環境研究センター)、古川真斗(熊本県保健環境科学研究所)、荒川英二、大西真)

#### エ コレラ菌のキチン誘導型DNAコンピテンスを支配する非典型的なシグナル伝達機構

GlcNAcのポリマーであるキチンはコレラ菌のDNAコンピテンスを活性化し、形質転換を引き起こす。昨年度までの解析から、キチンは膜貫通型の転写因子であるTfoSを介してコンピテンスに関わる遺伝子群の発現を活性化することがわかってきた。本年度はTfoSがキチンに応答するしくみについて解析を行った。その結果、1) TfoSは二成分制御系蛋白質のファミリーに属さないにも関わらず、その活性はキチン反応型の二成分系センサーキナーゼChiSに支配されること、2) ChiSからTfoSへのシグナル伝達は既知のリン酸基転移とは異なる機構で進行することが示唆された。[山本章治]

#### (2) 検査法開発に関する研究

##### ア *V. cholerae* のLPS合成遺伝子領域の解析および比較

*V. cholerae* のO血清群は現在210種類あり、その中にはコレラの原因菌であるO1、O139も含まれており、世界的に疫学解析に利用されている。いわゆるNAGと呼ばれるnon-01、non-0139の一部にはコレラ毒素を産生するものがあり、近年我が国や米国、欧州で散発例から分離されたO141や米国の散発例から分離されたO141と交差関係のあるO75では、コレラ様の激しい下痢症状も認められる。すでにO141およびそれと交差反応のあるO53、O75、O162についてO抗原合成遺伝子領域の全塩基配列を決定した。このうちO141、O75については、真菌部との共同研究により、O多糖の構造解析を行っている。また、O141、O75については特異的な遺伝子領域を標的としたPCRを設計し、*V. cholerae* の全O血清群について探索を行った所、O50、O57、O62、O103、O107、O113

の0血清群の菌株が陽性となった。陽性となったこれら血清群についてもその0抗原合成遺伝子領域の解析を行い、その類似性について検討を行なっている。また、国内でのコレラ様症状から分離された事例もある。08およびそれと交差反応のある0血清群0128について病原体ゲノム解析センターとの共同研究により、次世代シーケンサーを利用して0抗原合成遺伝子領域の全塩基配列決定を試みている。

(荒川英二；関塚剛史、黒田誠(病原体ゲノム解析センター)、浦井誠、宮崎義継(真菌部)、大西真)

## II. 呼吸器感染症ならびに侵襲性感染に関する研究

### 1. レンサ球菌属に関する研究

#### (1) 菌株の多様性解析と疫学的解析

ア 日本における2012年の非侵襲性A群レンサ球菌感染症患者分離株のT型別

2012年に全国の衛生研究所に収集されたA群レンサ球菌の菌株総数は、1240株であり、すべての株に対してT型別が行われた。分離頻度の高かったT型は、T1(332/1240, 26.8%)、T12(291/1240, 23.5%)、TB3264(180/1240, 14.5%)であった。T1、T12型は1992年以降、毎年、高い分離頻度を示している。2011年増加したT1型は、2012年減少した(2010年, 19.9%、2011年, 31.1%、2012年, 26.8%)。TB3264型の分離比率は、2010年、急激に上昇し、2011、2012年も10%台を維持している(2009年, 5.3%、2010年, 12.6%、2011年, 11.1%、2012年, 14.5%)。[池辺忠義、大西真、千葉一樹(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、増田千恵子(富山衛研)、河原隆二(大阪公衛研)、矢端順子(山口環保セ)、緒方喜久代(大分衛環研)、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

イ 日本において2012年に分離された劇症型A群レンサ球菌感染症患者分離株のT型別、*emm* 遺伝子型

2012年、A群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症(STSS)の報告が95症例あった。94例が*S. pyogenes*、1例が*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*による症例であった。

最も分離された型は、昨年同様T1型であったが、昨年と比較して分離比率が減少した(2011年, 69.0%；2012年, 51.6%)。また、咽頭炎由来株の分離比率(26.8%)に比べ、依然高い分離比率を示している。次いで、昨年同様TB3264型が多く、その分離比率は昨年と比較して上昇した(2011年, 10.7%；2012年, 18.9%)。この2つの型で全体の70%以上を占めている。

STSSの確定診断例95例中、*emm1*型(M1型)が49例(51.6%)と最も多く、次いで*emm89*型(M型別不能)が17例(17.9%)、*emm12*型(M12)が8例(8.4%)、*emm28*(M型別不能)が6例(6.3%)と多かった。

2011年と比較し、*emm1*型は、69.0%(58/84)から51.6%(49/95)に減少し、*emm89*型が10.7%(9/84)から17.9%(17/95)に増加した。

[池辺忠義、大西真、千葉一樹(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、増田千恵子(富山衛研)、河原隆二(大阪公衛研)、矢端順子(山口環保セ)、緒方喜久代(大分衛環研)、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

ウ 日本における劇症型/重症溶血性A群レンサ球菌感染症の薬剤感受性試験

2012年に発症した劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症を引き起こした95株について薬剤感受性試験を行った。全ての株において、ペニシリンG、アンピシリン、セファゾリン、セフトキシム、イミペネム、パニペネムに対して感受性を示した。クリンダマイシンに対して11.6%(11/95)の株が耐性を示し、昨年(2011年, 6.58%)より分離率が上昇した。また、エリスロマイシンに対し、60.0%(57/95)の株が、耐性を示し、昨年(2011年, 76.1%)より分離率が減少した。[池辺忠義、大西真、千葉一樹(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、増田千恵子(富山衛研)、河原隆二(大阪公衛研)、矢端順子(山口環保セ)、緒方喜久代(大分衛環研)、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

エ 日本における劇症型G群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の遺伝子型別

2012年、32例が劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告があった。菌種はすべて、*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*であった。*emm* 遺伝子型別を行った結果、*stC36*、*stG485*、*stG6792*型がそれぞれ5例(15.6%)と最も多く、次いで、*stG245*、*stG653*、*stG2078*が4例(12.5%)と多かった。そのほか、*stC1400*、*stG6*、*stG10*、*stG652*、*stG4974*型がそれぞれ1例であった。[池辺忠義、大西真、千葉一樹(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、増田千恵子(富山衛研)、河原隆二(大阪公衛研)、矢端順子(山口環保セ)、緒方喜久代(大分衛環研)、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

オ A群、G群以外の劇症型レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の血清型

2011年、2例のB群レンサ球菌、および1例のC群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告があった。菌種は、B群は2例とも *S. agalactiae*、C群は *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であった。B群は2株とも血清型 III であった。C群の *emm* 遺伝子型は、*stC839* であった。[池辺忠義、大西真、千葉一樹 (福島衛研)、大屋日登美 (神奈川衛研)、奥野ルミ (東京健安研)、増田千恵子 (富山衛研)、河原隆二 (大阪公衛研)、矢端順子 (山口環保セ)、緒方喜久代 (大分衛環研)、The Working Group for  $\beta$ -hemolytic Streptococci in Japan]

カ 小児侵襲性感染由来肺炎球菌の疫学調査。  
新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業 (Hib、肺炎球菌、HPV 及びロタウイルスワクチンの各ワクチンの有効性、安全性並びにその投与方法に関する基礎的・臨床的研究) の協力研究者として、日本国内の小児の本来無菌であるはずの検体より分離された肺炎球菌および GBS の血清型別、薬剤感受性試験、シーケンシングを行った。[常 彬、庵原俊昭 (国立病院機構三重病院)]

キ 小児肺炎患者由来肺炎球菌の解析。  
2010-2013年に乳幼児下気道感染症例より分離された肺炎球菌の血清型別およびシーケンシングを行い、小児7価結合型肺炎球菌ワクチン (PCV7) の接種普及による肺炎球菌の血清型の経年的変化を観測し、PCV7の下気道感染症に対する効果を調べた。(常 彬、成相昭吉 [横浜南共済病院])

## (2) 次世代肺炎球菌ワクチンのための病原機構に関する研究

### ア 肺炎球菌病原因子の機能解析

日本では高齢者用のポリサッカライドワクチンと小児用の結合型ワクチンが導入されているが、血清型交代現象による肺炎球菌ワクチンのワクチンカバー率の低下が大きな問題となっており、夾膜の血清型に依存しない次世代ワクチンの開発が急務である。本研究では次世代ワクチンの開発のために必要な分子基盤を構築することを目指し、肺炎球菌の病原因子の機能と肺炎球菌感染の発症機序の解明を目的とした。

肺炎球菌が感染した細胞内において、溶菌した菌由来の DNA がエンドソームから細胞質へと移行し TypeI インターフェロンを誘導することが報告されている。このことから、肺炎球菌の菌体表層に局在する多種多様な病原因

子がエンドソームから細胞質へと移行して機能を発揮する可能性について解析を行っている。肺炎球菌由来の病原因子を培養細胞に発現させ、局在パターンや細胞の形態変化を指標に検討している。(小川道永、山本章治)

### イ 培養細胞を用いた肺炎球菌感染モデル

肺炎球菌の菌液の調製には血液寒天培地から掻き取ったコロニーを液体培地に懸濁し濁度を調整したものを直接細胞に感染させる方法が広く用いられている。しかし、このような方法では、実験毎に菌の growth phase や moi など菌のコンディションをコントロールすることが困難である。そこで、本研究では肺炎球菌を安定的に液体培養する系を構築した。さらに、構築した肺炎球菌の液体培養系を用いて培養細胞に対する肺炎球菌の感染系の構築を行っている。(小川道永)

## 2. レジオネラ属細菌に関する研究

### (1) 菌株の多様性解析

#### ア 新しい *neuA* プライマーによる *Legionella pneumophila* 臨床分離株の Sequence-based typing (SBT)

レジオネラ・レファレンスセンターにおいて、2007年8月よりレジオネラ臨床分離株の収集を行っており、273株の *L. pneumophila* について SBT 法による遺伝子解析が行われたが、10株 (血清群5が7株、血清群2、4、10が各1株) は *neuA* 遺伝子が増幅しなかったため、型別不能であった。新しく提案された *neuAh* (*neuA* ホモログ) プライマーにより *neuA* 遺伝子が増幅され、すべての *L. pneumophila* 菌株において遺伝子型別が可能となった。

[前川純子、倉 文明]

#### イ *L. pneumophila* 臨床分離株の SBT 法による遺伝子解析

レジオネラ・レファレンスセンターで前年度に収集した *Legionella pneumophila* 54株 (血清群1が49株、血清群2、3、5、9、10が各1株) について、SBT 法による遺伝子解析を行った。同一の公衆浴場が感染源と推定されていた2例は、同じ ST で、集団感染事例の可能性が示唆された。54株は41種類の ST に分けられ、SBT 法の疫学的有用性が確認できた。15種類は新規 ST だった。

[前川純子; 渡辺ユウ (仙台市衛研); 渡辺祐子 (神奈川衛研); 磯部順子 (富山衛研); 田中 忍 (神戸市環境保健研); 中嶋 洋 (岡山県環境保健センター); 吉野修司 (宮崎県衛生環境研); 倉 文明、大西 真; Working Group for *Legionella* in Japan]

ウ 岡山県の *L. pneumophila* 血清群 3 環境分離株の SBT 法による遺伝子解析

平成 20 年～25 年に岡山県では *L.pneumophila* 血清群 (SG) 3 の臨床分離例が 9 株あり、すべての株が ST93 に型別された。これらの患者の感染源および起原菌が同一である可能性がある。感染源解明のための調査として、さまざまな環境から分離された SG3 の 39 株(浴槽水 31、原湯 1、ジャグジー 3、プール水 3、冷却水 1) について SBT 法による遺伝子型別を行った。39 株は 21 種類の ST に分けられたが、最も ST93 と近い遺伝子型グループの 2 株でも、共通な遺伝子座は 4/7 あるいは 3/7 に過ぎず、それ以外の菌株は遺伝的に遠く隔たっており、感染源の種類解明には至らなかった。[前川純子; 中嶋 洋 (岡山県環境保健センター); 倉 文明]

エ 家庭内の水環境中の *Legionella* 属菌種の同定

一般家庭における *Legionella* 属菌の汚染状況を調べるため、9 家庭の水廻りからの試料 (114 検体) を採取した。*Legionella* 属菌が 8 検体 (7.0%) から検出され、その菌種の同定を行った。浴槽水から *L. anisa* (150 CFU/ml) が検出され、その残り湯ホースのスワブからも *L. anisa* が検出された。洗面台蛇口水から *Legionella* sp. L-29 (370 CFU/ml、蛇口スワブからも検出)、庭の散水用ホース内の水から *L. busanensis* (20 CFU/ml)、カメ水槽水から *L. anisa* (20 CFU/ml)、金魚水槽水から *L. sainthelensi* (20 CFU/ml)、風呂の蛇口スワブから記載種ではない *Legionella* 属菌が検出された。*L. pneumophila* は検出されなかった。[渡辺祐子 (神奈川衛研); 前川純子; 黒木俊郎 (神奈川衛研); 倉 文明]

オ *L. pneumophila* 血清群 1 (Lp1) の喀痰由来株とアスファルト道路の水溜まり由来株の間の SBT 法による遺伝的近縁関係

レジオネラ症の主な原因菌である Lp1 は、土壌、河川、浴用施設、冷却塔など様々な環境から広く検出される。アスファルト道路の水たまりからも Lp1 が分離されているが、遺伝子解析による患者との関連は調査されていない。そこで、富山県内のアスファルト道路の水たまりから分離された Lp1 について、レジオネラ症患者、浴用水由来株と遺伝子型を比較し、患者の感染源と水たまりの関連を調査した。2010 年 11 月～2012 年 8 月にかけて、県内 28 か所のアスファルト道路から水たまり 134 検体を採水し、ろ過濃縮法でレジオネラ属菌を分離した。Lp1 については SBT を行った。水たまりの 40.3% (54/134 検体) からレジオネラ属菌が検出された。401 株のレジオ

ネラ属菌の血清群別の結果は、Lp1 が 82 株 (20.4%) と最も多かった。SBT により、Lp1 であった 82 株は 44 の遺伝子型に分類された。当所保存 Lp1 株 (患者由来 26 株、浴用施設由来 53 株、冷却塔由来 5 株、シャワー水由来 3 株) と遺伝子型を比較した結果、患者由来 9 株が水たまり由来株のみと同じ遺伝子型であった。これらの株に感染した患者は、感染源不明の散発事例が多く、感染源として水たまりが関連している可能性が示唆された。

[金谷潤一、磯部順子、木全恵子、嶋 智子、清水美和子 (富山県衛生研究所); 倉 文明; 佐多徹太郎、綿引正則 (富山県衛生研究所)]

## (2) 検査法の開発に関する研究

ア. レジオネラ属菌遺伝子迅速検査法の評価

レジオネラ属菌遺伝子迅速検査法の標準化に向けた基礎的データを得るため、現在市販されている迅速検査キット (生菌と死菌の両方を検出する qPCR 法と LAMP 法) 及び生菌迅速検査キット (生菌特異的検査法として新規に開発された LC EMA-qPCR 法) の 3 法について、浴槽水等の実試料を用い、平板培養法に対する感度、特異度等の評価を行った。新規 qPCR キット (+DNA 簡易熱抽出試薬、5 CFU/100ml カットオフ値)、LAMP 法、平板培養法 (10 CFU/100ml カットオフ値) の比較で、いずれも感度 100%、特異度 53.8%～57.0%であった。生菌迅速検査キット (LC EMA-qPCR 法、1 CFU/100ml カットオフ値) を定性試験として評価した場合、平板培養法に対する感度は 97.4%、特異度は 80.6%であった。すなわち、消毒が義務付けられている循環式浴槽においては、生菌迅速検査キットは平板培養法の代替も可能と考えられた。各遺伝子検査法の特徴を理解し、目的に応じて使い分ければ、培養法よりも迅速に結果を得ることが可能で、併用も容易と考えられた。[烏谷 竜哉 (愛媛県立衛生環境研究所)、磯部 順子 (富山県衛生研究所)、緒方 喜久代 (大分県衛生環境研究センター)、山口 友美 (宮城県保健環境センター)、武藤 千恵子 (東京都健康安全研究センター)、金谷 潤一 (富山県衛生研究所)、泉山 信司、八木田 健司 (寄生動物部)、倉文明]

## (3) 浴槽水のレジオネラ消毒法の開発に関する研究

ア. 種々の温泉水におけるモノクロラミン消毒効果と高濃度洗浄の検証

種々の成分を含む温泉源泉水におけるモノクロラミンと遊離塩素の濃度安定性を調べた。安定性は、⊖遊離塩素の濃度が著しく減少するが、モノクロラミンでは濃度が安定、⊖遊離塩素よりは失活が少ないものの、モノクロ

ラミンでも濃度減少、㊟遊離塩素、モノクロラミンのどちらも大幅な濃度減少、に大別できた。少量の試料を用いて試験することで、本消毒法の現場への適合性の事前試験と、採用判断が適切かつ簡便に進むと考えられた。モノクロラミン添加試験より、濃度安定性源泉水の施設、モノクロラミン濃度の減少がみられた源泉水の施設、および中性域 (pH 7.3) の井水の沸かし湯を使用する施設の、計 3 ヶ所を選出した。これら施設において、浴槽水のモノクロラミン濃度 (3 mg/L) を維持する 4 週間以上の実証試験を行なった。その結果、いずれの浴槽水中からもレジオネラやアメーバの検出はなく、塩素消毒臭の原因であるトリクロラミン、消毒副生成物の生成も少なかった。今年度の成果として新たに、モノクロラミン濃度の減少が見られる泉質、中性域の井水の沸かし湯への、モノクロラミンの高い消毒効果と安全性が確認された。浴槽水の配管洗浄方法として、高濃度モノクロラミン (20 mg/L 程度) による循環殺菌が効果的であることが、ろ過器逆洗水やヘヤーキャッチャー接続配管内面拭き取りの検査から示された。これまでの結果から、循環式浴槽水へモノクロラミン消毒法を導入するのに必要な衛生管理手法は確立されたと考える。今後、遊離塩素消毒が困難な現場施設へのモノクロラミン消毒法の早急な導入・普及が望まれる。

[縣 邦雄 (アクアス株式会社)、神野透人 (国立医薬品食品衛生研究所)、八木田健司 (寄生動物部)、杉山寛治 (株式会社マルマ)、小坂浩司 (国立保健医療科学院)、泉山信司 (寄生動物部)、長岡宏美 (静岡県環境衛生科学研究所)、片山富士男 (静岡市保健所)、和田裕久、富田敦子 (静岡市環境保健研究所)、江口大介、市村祐二 (ケイ・アイ化成株式会社)、倉文明]

イ. アンモニウムイオン、ヨウ化物イオン等が塩素剤の安定性に与える影響

遊離塩素消毒が効きにくい泉質での代替消毒薬として、モノクロラミンが提案されている。ただし、モノクロラミンは高 pH の温泉や井戸水の消毒に有効であることがこれまでの研究で示されたが、全ての温泉に適用可能であるかは定かではない。塩素消毒に影響するとされるアンモニア態窒素、ヨウ化物イオン、臭化物イオン、フミン酸、硫黄、鉄イオンを選び、これら因子がモノクロラミンに与える影響を確認した。各因子と混合した遊離塩素とモノクロラミンの濃度の推移を、それぞれ DPD 法、インドフェノール法で測定した。モノクロラミンへの影響がほとんど見られなかったのは、アンモニア態窒素とフミン酸であった。鉄イオンは、遊離塩素だけでは

なく、モノクロラミンへの影響が見られたが、添加直後の消失はモノクロラミンのほうが影響は小さい傾向が見られたため、濃度管理を行う上ではモノクロラミンが有利と考えられた。ヨウ化物イオンは、遊離塩素のほうが影響は小さく優位性を示しているように見えたが、ヨウ化物イオンが DPD 法に影響を及ぼすことから正しい濃度を測定できていない可能性が示唆された。臭化物イオンは反応速度が遅かったが、ヨウ化物イオンと同様の傾向であった。換言すると、ヨウ化物イオンと臭化物イオンが存在する泉質では、正しい遊離塩素消毒と濃度測定ができていない恐れが考えられた。硫黄はいずれの消毒でも、添加直後に急速な塩素の消失が確認された。塩素の消費後は、濃度は安定した。以上の結果から、モノクロラミンに対しても影響を与える成分が存在することが確認できた。しかし、遊離塩素より反応の遅い泉質では、遊離塩素よりモノクロラミン濃度の維持がしやすいと考えられ、遊離塩素処理に苦慮する施設への適用を試みたいと考えている。

[縣 邦雄 (アクアス株式会社)、青木信和、市村祐二、江口大介 (ケイ・アイ化成株式会社)、杉山寛治 (株式会社マルマ)、泉山信司 (寄生動物部)、小坂浩司 (国立保健医療科学院)、片山富士男 (静岡市保健所)、和田裕久、富田敦子 (静岡市環境保健研究所)、倉文明]

### 3. 髄膜炎菌に関する研究

#### (1) 菌株の多様性解析

##### ア 髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の疫学的解析

感染症法の改正により、これまでに「髄膜炎菌性髄膜炎」による髄膜炎症状のみの届出基準から、本年度からは「侵襲性髄膜炎菌感染症」として敗血症症例も届出基準に追加され、それに伴った報告例の増加が認められた。具体的には昨年度は 15 例であった報告数が今年度は 38 例にまで増加した。それに伴って昨年度 1 年間に感染研に収集された株は 3 株のみであったが、本年度は 11 株が収集された。その 11 株の髄膜炎菌の疫学的解析を行なった。それらの髄膜炎菌株の血清型は Y 群 9 株、B 群、及び C 群が一株ずつであった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-23 株が 5 株、ST-1655 株が 4 株で、ST-23 と ST-1655 は 1 塩基違いであり、血清群 Y の 9 株全てが ST-23 complex として同定された。血清群 B の株は ST-10808、血清群 C の株は ST-11 であった。今年度の分離株の中では血清群 B の ST-10808 の株が目される。この ST は新規の遺伝子型であり、本解析により新たに検出された遺伝子型である。この株は沖縄での症例から分離された。沖縄では過去の疫学解析から通常本

州で単離される遺伝子型とは異なった、希有な遺伝子型の株が分離されるケースが認められ、ヒト-ヒト感染によって拡大する髄膜炎菌が地理的条件によって分布が異なることを強く示唆する結果があると考えられる。また、今回は圧倒的に Y 群、ST-23 complex の臨床分離株が多く認められた。このことから、日本では「Y 群、ST-23 complex」の株が多く分布する可能性が考えられた。一方で、38 の症例報告中の 11 株しか回収出来ていないことから、今後も菌株回収の努力を続けるとともに、より積極的な起炎株の回収方策を何か講じる必要性も感じられた。来年度からも敗血症症例をも含めた「侵襲性髄膜炎菌感染症」の報告例が多いことが予想され、引き続き国内の臨床分離株の解析をしていく必要がある。[高橋英之、大西真]

## (2) 検査法に関する研究

ア 咽頭うがい液を用いた髄膜炎菌の健康保菌者の調査  
昨年度は咽頭うがい液中の髄膜炎菌 DNA を検出する事により健康保菌者の検出する系の構築を試み、その方法を確立した。しかし、研究費削減により調査におけるコスト削減を余儀なくされたため、本年度はこの方法を栄研化学のキットを用いない、Bst DNA ポリメラーゼを単独で用いる方法で実施出来る条件を検討した。その結果、0.5mM の  $Mn^{2+}$  イオン存在下で 25mM のカルセインを加えた条件下であれば、*ctrB* 遺伝子をターゲット遺伝子として反応液中に 1pg のゲノム DNA があれば検出出来るようになった。以上の手法により検出コストを 1/10 以下に削減することが可能となり、ウガイ液からの髄膜炎菌 DNA の大規模な検出調査が実施可能となった。来年度からはこの系を用いて咽頭うがい液を用いた健康保菌者の保菌率を実際に調査する予定である。[高橋英之、大西真]

## (3) 病原機構に関する研究

ア *gltT-gltM* グルタミン酸トランスポーターを介した髄膜炎菌の細胞侵入時に発生する RNA seq による転写制御、及び TMT ラベリングによる翻訳後制御の網羅的解析  
過去に行なった signature tag mutagenesis の変法を用いた髄膜炎菌の病原性因子の網羅的探索によって細胞侵入の際に GltT を介した髄膜炎菌のグルタミン酸の一過的な取り込みが髄膜炎菌及び宿主細胞へのシグナルとなって髄膜炎菌の細胞侵入が起こる機構の存在を見出した。しかし、グルタミン酸の一過的な取り込みが髄膜炎菌にどう作用しているかは不明であるため、転写制御、翻訳制御を網羅的に解析する事にした。ヒト脳血管内皮

細胞(HBMEC)に髄膜炎菌野生株及び *gltT-gltM* 変異株を感染させ、そこから細菌の全 RNA 及び全タンパク質を回収して RNA-seq による遺伝子発現差異及び TMT ラベリングによるタンパク質発現差異を解析した。その結果、3 倍を超える発現差異は RNA 及びタンパクレベルで殆ど認められず、髄膜炎菌の感染時における発現変化は大きくない事が強く示唆された。この結果から GltT を介した髄膜炎菌のグルタミン酸の一過的な取り込みは細菌側に及ぼす影響ではなく、宿主細胞への影響である可能性が考えられた。現在、髄膜炎菌の感染時の環境内グルタミン酸の取り込み効率と宿主細胞への侵入効率の相関性に関してさらに解析を進めている。[高橋英之、大西真 (感染研)、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)、柳沢達男、横山茂之 (理研)]

## イ 髄膜炎菌の培養細胞における接着の研究

淋菌と髄膜炎菌との組織トロピズムの違いに着目して、尿道炎の発症メカニズムを詳細に説明し予防戦略構築を目指すため、本研究では主に尿道炎由来髄膜炎菌の細胞接着性に着目している。これまでに本研究所保有の髄膜炎菌(n=447)における尿道炎由来髄膜炎菌(n=15)では、MLST 型 23 に属する株が優位に分離されることを示した。更に、MLST 型 23 に属する尿道炎由来 9 株、非尿道炎由来 13 株における HeLa 細胞に対する免疫染色法による細胞接着能の確認では、尿道炎由来株の 77.8%、非尿道炎由来の 23.1%が高接着型であることを示し、尿道炎由来株が有意に HeLa 細胞へ接着出来ることも明らかにしてきた。本年度は、主に ST23 に属する尿道炎由来髄膜炎菌の HeLa 細胞接着に関与する菌側の責任因子の探索を行った。はじめに髄膜炎菌の宿主細胞に対する主な接着因子として知られている PilE、Opa、Opc の HeLa 細胞に対する接着能の確認を行った。HeLa 細胞に対して高接着型を示す 2 株(NIID455、NIID459)についてこれらの欠失株を用いた、HeLa 細胞に対する細胞接着能の確認を行ったところ、NIID455 株の *opc* 欠失株において野生型と比較して約 80%の細胞接着能の低下がみられた。また、この相補株では野生型と同程度の細胞接着能の回復が見られた。以上より、尿道炎由来髄膜炎菌の一部の株における HeLa 細胞接着に関与する因子として *opc* が関与していることが示された。また、MLST 型 23 に属する株において HeLa 細胞へ対して低接着型及び高接着型を示すそれぞれ 5 株について、Western Blotting による Opc の発現を確認したところ、低接着型及では 1 株、高接着型では 4 株においてタンパク質の発現が確認された。

(志牟田 健、高橋 英之、大西 真)

### III. ボレリアならびにレプトスピラ感染症に関する研究

#### 1. ボレリア感染症に関する研究

##### (1) ボレリア感染症の疫学研究

##### ア 新興回帰熱感染例の遡及調査

ライム病もしくはライム病疑い患者血清を材料とし、新興回帰熱感染例の遡及調査を行い、二例が新興回帰熱の単独感染もしくはライム病ボレリアとの重複感染であることを明らかにした。このことは国内において、回帰熱(ボレリア・ミヤモトイ感染症)が潜在し、健康被害が生じていることを示している。[川端寛樹, 佐藤梢, 大西真(細菌第一部), 高野愛(山口大学), 中尾稔(旭川医科大学), 伊東拓也(北海道立衛生研究所), 今内覚(北海道大学), 小山幸次郎(国保雄武病院), 兼古稔(上富良野町立病院)]

##### イ マダニの新興回帰熱病原体保有調査

ボレリア・ミヤモトイの感染経路特定のため、北海道を中心にマダニの本ボレリア保有調査を行った。マダニ4345頭からリアルタイムPCRによりボレリア・ミヤモトイゲノム検出を試み、*Ixodes persulcatus*(陽性率2%), *I. pavlovskyi*(同4.3%)が主な媒介ダニであることを明らかにした。[川端寛樹, 佐藤梢, 大西真(細菌第一部), 高野愛(山口大学), 中尾稔(旭川医科大学), 伊東拓也(北海道立衛生研究所), 今内覚(北海道大学)]

##### (2) ボレリア感染症の病原機構に関する研究

##### ア 新興回帰熱病原体のマウス感染モデルの検討

ボレリア・ミヤモトイ感染におけるヒト病態解析および菌の病原性解析を目的として、マウス感染モデルの検討を行った。*B. miyamotoi*接種C57BL/6Jマウスでは、菌血症が観察されるとともに肝臓や脾臓に菌の集積が認められた。また、一部のクローン化株では上記感染像が見られなかったことから、今後、比較ゲノム解析によりその違いを調べて行く予定である。[川端寛樹, 佐藤梢, 大西真(細菌第一部), 高野愛(山口大学), 松村隆之, 阿戸学(免疫部), 長谷川秀樹(感染病理部), 林哲也(宮崎大学)]

#### 2. レプトスピラ症に関する研究

##### (1) レプトスピラ症疫学研究

ア フィリピン・マニラの洪水後のアウトブレイク調査  
2013年8月の台風とそれに伴う洪水後のレプトスピラ症

アウトブレイク調査をサンラザロ病院で行った。232名のレプトスピラ症疑い患者のうち実験室診断により128名のレプトスピラ症が確定した。患者分離株はドブネズミ分離株と血清学的、遺伝的に同一で本動物が重要な保菌動物であることが明らかとなった。また従来法と比較してLigA-IgM ELISAの有用性を明らかにした。[小泉信夫, 大西真(細菌第一部), 北庄司絵美, 鈴木基, 有吉紅也(長崎大熱研), Lacuesta TL, Dimaano EM, Villarama JB (San Lazaro Hospital)]

##### イ ベトナム北部のレプトスピラ症疫学研究

タインホア地域の熱源不明の発熱患者の20%からレプトスピラ特異的IgMが検出され、9%の患者血液からレプトスピラDNAが検出された。また同地域の健常人の49%からレプトスピラ特異的IgGが検出され、農業従事者におけるレプトスピラ感染の蔓延が明らかとなった。[小泉信夫, 大西真(細菌第一部), Hoang Thi Thu Ha (NIHE)]

##### ウ 台湾の小型哺乳動物から分離されたレプトスピラの解析

台湾の小型哺乳動物から分離されたレプトスピラ20株の性状解析を行った。*flaB*部分塩基配列決定および標準抗血清との反応性から、分離株は*L. borgpeterseni* serogroup Javanica および *L. interrogans* serogroup Australis および Bataviae と同定された(血清群未同定1株)。Multiple locus variable-number tandem repeats analysis (MLVA)による*L. interrogans*分離株の分子タイピングによって、Bataviaeはフィリピン、ベトナム株と遺伝的に同一であり、Australisは沖縄県の患者から分離された株と近縁であることが明らかとなった。[小泉信夫, 大西真(細菌第一部), Jung-Jung Mu (TCDC)]

エ 国内の各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査  
11都府県36頭のレプトスピラ症疑いイヌのうち3頭からレプトスピラが分離され、*L. interrogans* serogroup Australis (1頭) および Hebdomadis (2頭) と同定された。宮城県および東京都のドブネズミから *L. interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae が分離された(分離率: 宮城県67%, 東京都60%)。[小泉信夫, 大西真(細菌第一部), 小松謙之(シー・アイ・シー)]

##### (2) 病原機構解明に関する研究

ア ハムスターを用いた *Leptospira interrogans* 2血清

## 型の病原性の比較

レプトスピラは血清型により病原性が異なることが知られているが、そのメカニズムは明らかになっていない。レプトスピラ症モデル動物ハムスターに対し致死を引き起こす強毒株 UP-MMC-NIID, 致死を引き起こすことができない弱毒株 OP84 を接種した結果、強毒株接種ハムスターでは、腎臓、肝臓、肺臓いずれの臓器においても弱毒株接種ハムスターよりも顕著な症状が観察された。また、強毒株、弱毒株接種いずれのハムスターにおいても、血液および肝臓では感染後 48, 72, 96 時間、腎臓および肺臓では感染後 96 時間でレプトスピラ DNA が検出されたが、肺臓を除く臓器におけるレプトスピラ DNA 量は強毒株接種ハムスターで有意に多かった。レプトスピラ接種により、全ての臓器で炎症性サイトカイン遺伝子の発現量増加が見られたが、感染後 96 時間の肝臓では *ip-10* および *il1β*, 腎臓では *il6* の発現量が弱毒株接種ハムスターに比べ強毒株接種ハムスターで有意に高かった。これらの結果から、各臓器における障害と炎症性サイトカインの過剰発現が、UP-MMC-NIID 株のハムスターに対する強毒性に寄与している可能性が示唆された。[小泉信夫, 大西真 (細菌第一部) 藤田理恵 (東京農工大学)]

## IV 泌尿生殖器感染症に関する研究

## 1. 淋菌に関する研究

## (1) 菌株の多様性と薬剤耐性に関する解析

## ア 首都圏の臨床分離株のレトロスペクティブ分子タイピング

淋菌の分子タイピングとしてクローナリティ検知に優れた NG-MAST 法が多用される。最近の傾向として国内でも海外でも NG-MAST 型が ST1407 及び ST2958 のものが主流を占めることが多数報告されているが。これらの型の最初の出現時期などは分かっていない。昨年度報告のように、我々は東京保健会病体生理研究所細菌検査室にストックされていた 2005~2011 年に首都圏に於いて分離された計 147 株にアクセスできる機会を得て、レトロスペクティブな NG-MAST 解析及び MIC 測定を行い、結果、ST1407、ST2958 型はいずれも 2005 年には検出できず、2006 年に初例がある事、また、その後 2008 年に Prevalence rate のピークを迎え、その後も他の型とは違い、持続して検出が続いていること、などを明らかにしていたが。今回、2011 年分離 ST1407 型株中に国内では現時点では多くない、アジスロマイシン耐性株 MIC=16 µg/ml の株を 2 株発見し、それらと他の 1 株、MIC=8 µg/ml、ST6762、計 3 株が 23S rRNA の 4 座位ともに C2611T 変異を有することを明らかにし、報告し

た[中山周一、高山美子\*、志牟田健、大西真] (\*: 東京保健会病態生理研究所細菌検査室)

## イ セフトリアキソン耐性淋菌の強化サーベイランス

2010-2012年に京都府と大阪府の淋菌感染症疑いの患者より分離同定された淋菌193株の分子タイピングの結果より、第三世代セファロスポリン剤に対する非感受性株が、MLST型1901、7363、7819の3つの系統に属する株に多くみられた。このことより、近年におけるこれら薬剤に対する非感受性株拡大の一部はこれらMLST型に属する株によるクローナルな現象であることが示唆された。また、高度セフトリアキソン耐性淋菌はH041株以外に2010年にフランスで同定されたF89株が報告されており、H041と同様にそのセフトリアキソン耐性化の寄与に *penA* 遺伝子の変異が大きく関与していることが示されている。本調査では、F89株は同定されなかった。しかし、セフトリアキソンに対して非感受性を示した19株のうち、F89株と同様のMLST型1901並びにNG-MAST型1407(世界中の多剤耐性淋菌株の多くにみられる)を示し、かつ *penA*XXXIV 遺伝子、またはその派生した *penA* 遺伝子を保持した株が11株確認された。これらの株の *penA* 遺伝子の1塩基置換のみで、F89株様 *penA* 遺伝子の出現を可能にすることより、今後、本邦においてもH041株同様にこれらの株の拡散に対しても十分な注意が必要であることを示した。(志牟田 健、中山 周一、石原朋子、大西 真)

## ウ 京都・大阪における薬剤耐性淋菌サーベイランス

2013年4月から2014年3月の間に、京都市内2ヶ所および大阪府内3ヶ所のクリニックより送付された臨床検体のうち、本研究所にて淋菌と分離同定した212株について penicillin G、cefixime、ceftriaxone、ciprofloxacin、azithromycin、spectinomycin に対する MIC 測定を実施した。その結果、それぞれ上記の薬剤に対して 0.9%、26.8%、78.0%、14.9%、73.5%、100%が感受性株であった。近年危惧されている ceftriaxone 耐性株は分離されなかった。[石原朋子、中山周一、志牟田健、飛田収一(飛田病院)、伊東三喜雄(伊東泌尿器科)、石川和弘(京都市衛生環境研究所)、古林敬一(そねざき古林診療所)、亀岡博(亀岡クリニック)、川畑拓也(大阪府立公衆衛生研究所)、安本亮二(安本クリニック)、大西真]

## エ 日本における azithromycin 治療失敗例由来株の解析

Azithromycin 2g による治療失敗例由来株について、治

療前後4株の解析を行った。薬剤感受性試験の結果、すべての菌株が azithromycin および ciprofloxacin に耐性を示した。23SrRNA 遺伝子においては C2599T 変異を含み、また mtrR プロモーター領域に1塩基欠失の変異が見いだされた。分子タイピングの結果、すべての菌株が MLST ST1901/NG-MAST ST1407 を示し、うち3株においては MLVA パターンが一致した。今後、このような菌株の広がり注視するとともに、azithromycin の適切な使用を促すことが重要である。[石原朋子、古林敬一(そねざき古林診療所)、志牟田健、中山周一、杉井麻耶(北里大学)、大西真]

## 2. 梅毒トレポネーマに関する研究

### (1) 菌株の多様性解析

#### ア 梅毒トレポネーマの分子タイピング

昨年度に引き続き、2つの STI クリニック(今年度途中より1クリニックが追加参加)と共同で、皮膚病変が有り、梅毒を疑う場合の病変漿液からの梅毒トレポネーマ DNA 検出、分子タイピングとを実施した。

2013年4月~2014年3月間での21のPCR陽性例中タイピングに成功したものは15例で、このうち12例は海外でも最頻とされる14d/fであった。他は11d/f、14d/g、14e/fがそれぞれ1例ずつであった、今年度は日本国内では世界的にも最頻の14d/fが圧倒的多数、80%であった。[中山周一、井戸田一朗\*、本郷偉元\*\*、大西真](\*: しらかば診療所、\*\*: 武蔵野赤十字病院感染症科)

#### イ マクロライド耐性型 23S rRNA 変異を持つ梅毒トレポネーマ国内初の検出

前項で述べた14d/gタイプはアメリカ、シアトル市においては特にMSM間で2008年以降、14d/fを凌駕し、最頻型となっておりマクロライド耐性型変異保持と強くリンクしている。ロンドンでも解析検体数は少ないが、14d/g、耐性型23S rRNA変異が多いとの報告が有り、注目されている型である、前項で既述のように我々はこれまでに1検体のみ14d/gを検出したが、これについて23S rRNA 2座位の塩基配列を決定したところ、両座位とも耐性型のA2058G変異を有していた。今後他の検体でも同変異の分布を検討する予定である。

アジスロマイシン等のマクロライド系薬剤は現在アメリカを含め、梅毒治療の第一選択推奨薬とはされていないが、ペニシリンアレルギー患者の場合の魅力なオルターナティブである、今後、国内での耐性型変異梅毒トレポネーマ分布状況の把握が重要と考えられる、

## (2) 検査法に関する研究

### ア 梅毒の核酸診断

梅毒トレポネーマは、現在 in vitro 培養不可能な菌であり、病原体ベースの直接的診断が困難である。近年、感度・特異性に優れたPCR検出系が提案されている。初期梅毒を疑う場合の病変漿液を直接鋳型とする簡便PCRでの梅毒トレポネーマDNA検出系の評価を行っている。

今年度は、39件の疑い症例を検討し、21例でPCR陽性結果を得た。18例の陰性群中で血清学的には梅毒と診断されたものは8例で、そのうち2例は病変検体採取1週間前から治療先行していた例であった。他の6例については従来の評価通り病原体診断が血清抗体診断に対して総合的な感度では劣ることを再確認した例と考えられる。21例のPCR陽性のうち6例では検体採取時の血清抗体は陰性であり、昨年に引き続き抗体陽転前のPCRによる迅速診断の有用性が示された諸例と考える。これらことから、PCR法が特に血清抗体陽転前の皮膚病変からの早期病原体診断、従って早期治療に資する検査法、として非常に有用であることを補強できたと考える。[中山周一、井戸田一朗\*、本郷偉元\*\*、大西真](\*: しらかば診療所、\*\*: 武蔵野赤十字病院感染症科)

## V 口腔内細菌に関する研究

### 1. う蝕原因菌に関する研究

#### (1) バイオフィーム形成機構に関する研究

#### ア *Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成を抑制する小豆成分の同定

昨年度に引き続き本研究を行った。*Streptococcus mutans* は、口腔バイオフィームを形成する主な細菌でありう蝕原因菌として考えられている。このバイオフィームを阻害する分子を検討するために様々な植物由来成分の検討を行った。その結果、小豆成分に抑制物質が存在することが明らかとなった。この小豆成分の同定を行った。その結果、7Sグロブリンであることが確定された。この7Sグロブリンは、Competence Stimulating Peptide (CSP)の活性であるバクテリオシン活性も抑制した。それらの抑制活性は、大豆の7Sグロブリンよりも高いことが明らかとなった。

[泉福英信、荒井俊明、大西 真]

#### イ *Streptococcus mutans* の病原性発現に関わるアミロイドの検討

口腔バイオフィーム形成に菌体表層アミロイドが関与する可能性が高く、本研究ではバイオフィーム形成にお

けるアミロイドの関わりについて検討を行った。SMU574 変異株はコロニーの表面にアミロイドが認められた。他の株では認めることができなかった。しかし、SMU574 変異株は、バイオフィーム形成が親株と同程度であった。このことは、アミロイド形成が必ずしもバイオフィーム形成にかかわっていないことを示唆している。一方、SMU482 変異株は、アミロイド形成とバイオフィーム形成の両方の上昇が認められた。

SMU482 と SMU574 の変異株は、それぞれ異なったアミロイド形成とバイオフィーム形成との関係性が示された。これは、アミロイドが直接バイオフィーム形成に関与しているのではなく、凝集のような他の現象に関与し、それが培地などの様々な条件で凝集性の違いが現れ、それらがバイオフィーム形成に異なった影響を与えていることが考えられた。

[泉福英信、大西 真]

ウ *Streptococcus mutans* における凝集性に関わる遺伝子の検討

*S. mutans* UA159 の SMU940 変異株は、親株に比べ凝集性が高まる。その凝集性は、蛋白質レベルでグルカン結合蛋白質 (GbpC) の発現量の上昇と関連していることが明らかになった。遺伝子レベルでもその発現量の上昇が認められた。よって、SMU940 は、*gbpC* の発現量を調節し、菌凝集を制御していることが明らかとなった。この凝集性は Extra cellular DNA の関与がないことから、バイオフィーム形成に影響を与えないことが考えられた。

[鈴木奈央未、成澤直規、落合邦康 (日本大学歯学部)、泉福英信]

エ Extracellular DNA に依存した *Streptococcus mutans* バイオフィーム形成における非水溶性グルカンの役割

う蝕原性細菌である *S. mutans* の *sunL* は、*sunL* の下流の *pknB* と *pppL* の発現に影響し、extracellular DNA (eDNA) の放出の調節、eDNA 依存バイオフィーム形成に関わることが明らかとなった。この *S. mutans* UA159. *sunL* 変異株は、非水溶性グルカン産生に寄与する酵素 GTFI をコードする遺伝子 *gtfB* および *gtfC* の発現の上昇、水溶性グルカン産生に寄与する酵素 GTFS をコードする *gtfD* の発現の下降が起こっていた。これは、非水溶性グルカンの産生量と水溶性グルカンの産生量の比率が変り、非水溶性グルカンが優位になることを示している。glucose の含まれた Tryptic soy broth (TSB) 存在下で培養すると、TSB に少量のスクロースが存在しているた

め、非水溶性グルカンの比率の高い環境ができ、それが eDNA 依存バイオフィーム形成に影響していることが考えられた。

[泉福英信、大西 真]

オ 流れのある環境における酪酸による *Actinomyces naeslundii* バイオフィーム形成

*A. naeslundii* X600 は、96 穴マイクロタイタープレートを用いたバイオフィーム形成実験において、6 mM の酪酸添加によりバイオフィーム形成の上昇が認められた。実際の口腔の状態により近づけるために、流れのある環境でこのバイオフィーム形成実験を行った。その結果、6 mM ではバイオフィームが形成されず、60 mM の酪酸でバイオフィームが形成された。この理由は、低 pH の環境が必要であることが考えられた。しかし、塩酸で調整した同じ低 pH 環境の培地では、バイオフィームが形成されなかった。pH7.0 の 60 mM 酪酸ナトリウムを塩酸で pH4.7 に調節すると、バイオフィームが形成されるようになった。よって、流れのある環境における *A. naeslundii* バイオフィーム形成には、酪酸と低 pH 環境が必要であることが明らかとなった。

[泉福英信、荒井俊明、大西 真]

カ マウス口腔における *Candida albicans* のバイオフィーム形成実験

ヒト口腔には、年齢とともに *C. albicans* の感染が見られるようになってくる。この *C. albicans* の出現が、口腔の健康な微生物叢が破壊されていく指標として考えられている。高齢者は唾液分泌量が低下していることが多い。そこで唾液分泌低下モデルである NOD/SCID. *e2f*-マウスに *C. albicans* を接種して、*C. albicans* のバイオフィームが形成されるか検討を行った。その結果、バイオフィームは唾液の分泌低下に関係なく *C. albicans* の連続接種で形成されるようになること、また約 3 日のインターバルを置いて連続接種すると著しくバイオフィームが形成されることが明らかとなった。組織切片で舌を観察すると、バイオフィームは形成されているものの、菌糸形成や組織侵入は認められなかった。*C. albicans* の口腔への定着および病原性の発揮に連続接種が必要であることが明らかとなった。

[泉福英信、木下陽介、大西 真]

2. 歯周病、および歯周病原細菌に関する研究

(1) *Porphyromonas gingivalis* の病原機構に関する研究  
ア 二次元電気泳動による *Porphyromonas gingivalis* 外膜

## ヴェシクル (OMV) のプロファイリング

歯周病原細菌 *P. gingivalis* の OMV を二次元電気泳動により分離した。比較対象に用いた *P. gingivalis* 由来外膜タンパクは二次元マップ上で大方偏ることなく分布するが、OMV 由来のスポットは多くが低 pH 領域に分布した。狭域低 pH 領域のゲルを一次元目で用いると、分解能があり計 52 スポットが LC-MS/MS により同定された。また、ポリプロテインである RgpA や Kgp の各ドメインレベルでの同定が可能となった。[中尾龍馬、白東英、伊藤昭博 (理研)、吉田稔 (理研)、泉福英信]

(2) *Porphyromonas gingivalis* 感染症予防・治療に関する研究

ア *Porphyromonas gingivalis* の外膜ヴェシクル (OMV) のイムノプロテオーム解析

*P. gingivalis* の OMV をマウスに経鼻免疫すると全身に菌特異的抗体が誘導される。このマウス血清の免疫反応プロファイルを二次元電気泳動とウエスタンブロットで明らかにした。調べた 6 つの異なるマウス血清は LPS、Rgps、Kgp、MfaI 等に反応した。また、免疫マウス血清を LPS で吸収すると、ウエスタンブロットのシグナルが著しく減じたことから、LPS 抗体または A-LPS 修飾タンパクに対する抗体が優勢となっていることが明らかとなった。[白東英、中尾龍馬、尾花望、泉福英信]

イ 食品由来物質による *P. gingivalis* に対する生物学的効果の検討

様々な食品由来物質の *P. gingivalis* の生育やバイオフィーム形成に対する効果を検討した。その結果、カレーリーフ、プロポリス、イカリソウに増殖抑制効果が認められた。特にプロポリスとイカリソウは *P. gingivalis* に対して殺菌的に作用し、生育を阻害することが明らかとなった。さらに、イカリソウについてはバイオフィーム形成阻害効果もみられた。これら食品由来物質を用いた歯周病の予防や治療への応用が期待される。[中尾龍馬、吉益由莉、古川壮一 (日本大学)、狩生徹(尚綱大学)、池田剛(崇城大学)、大西真、泉福英信]

## 3 歯科医療における院内感染対策導入に関する調査

(1) 歯科医療機関における効果的な院内感染対策の促進に関する研究

歯科医療は、患者との近接、唾液血液の飛び散りなどから病原体に曝されるリスクが高いためスタンダードプレ

ードプレコーションの理解率は、低いままである。そのため、現在までの研究成果により構築された院内感染防止プログラムをさらに発展いかに普及させていくかが研究課題である。そこで、院内感染対策を普及するためにどのようなシステム作りをすればよいか検討を行った。各都道府県の歯科医師会所属院内感染対策普及ならびに HIV 感染者の歯科治療を行うネットワーク事業の担当者を集めシンポジウム開催し、相互討論会を開催した。その結果、各地区で行っている事業の成果や研究事業の成果を合わせて討論する機会や連携する機会を増やすことにより相互間の理解が深まり院内感染対策の普及が進むことが明らかとなった。このような情報を書籍化して発行する準備を進めている。

[泉福英信、多田章夫 (兵庫大学)]

## レファレンス業務

I. 劇症型/重症レンサ球菌感染症に関するレファレンス業務

地方衛生研究所および病院から送られた劇症型/重症レンサ球菌感染症患者分離菌株の血清型別、emm 遺伝子の塩基配列による型別、spe 遺伝子の保有状況等の検査及び結果および流行状況の報告、および、患者分離株の血清型別の流行に関する全国集計を行っている。[池辺忠義、大西真、The Working Group for  $\beta$ -hemolytic Streptococci in Japan]

II. レジオネラ症に関するレファレンス業務

ア. 菌株の受け入れ

平成 25 年度は、臨床分離株 48 株、環境分離株 134 株の合計 182 株を受け入れた。臨床分離株は、*L. pneumophila* (Lp) SG1 の 42 株、Lp SG3 の 2 株、Lp SG2 と Lp SG12 と Lp SG14 と *L. dumoffii* の各 1 株であった。浴槽で溺水 2 事例 4 株 (Lp SG1 と *L. dumoffii*、Lp SG3 と Lp SG14)、冷却塔による院内感染事例 1 株、温泉で集団感染 1 事例 2 株、高圧洗浄機による感染疑い事例 1 株を含んだ。Lp の遺伝子型別 (SBT) を検査しレファレンスセンター報告資料を作成した。環境分離株は、Lp SG1 の 55 株、Lp SG3 の 47 株、Lp SG6 の 4 株、Lp SG5 の 2 株、Lp untypable の 2 株、Lp 以外では *L. anisa* 12 株、*L. bozemaniae* 6 株、*L. busanensis* 3 株、*L. sainthelensi* と *Legionella* spp. 2 株であった。この環境分離株中には、まれな環境水等由来株 (噴水・修景水 7 株、復水器関連の拭い 7 株、道路の水溜まり 6 株、シャワー水・拭い 6 株、水道水及び拭い・ホース拭い 6 株、水槽水 2 株の合計 34 株)、症例調査に関連した株 (10 株) を含んだ。なお、

収集された株は、必ずしも平成 25 年度に分離された株ではない。[倉 文明、前川純子、大西 真]

イ. 市販されていないレジオネラ免疫血清の作製と配布

レジオネラ免疫血清ニューモフィラ混合(2~15 群)、レジオネラ免疫血清ニューモフィラ混合 1 (2, 3, 6, 12, 14 群)、レジオネラ免疫血清ニューモフィラ混合 2 (4, 5, 9, 10, 15 群)、レジオネラ免疫血清ニューモフィラ混合 3 (7, 8, 11, 13 群)の 4 種類をデンカ生研に委託して作製し、特異性を感染研で検査して 6 支部センターに配布した。レジオネラ検査のための混合血清の配布は国内初である。新たに 1~15 群を 3 つに分けて検査できるようにした。ニューモフィラ混合は、*L. lansingensis*、*L. quateriensis*、*L. worlensis* と交差反応し凝集させた。ニューモフィラ混合 1 は *L. lansingensis* を凝集させた。ニューモフィラ混合 2 は *L. quateriensis*、*L. worlensis* を凝集させた。[倉 文明、前川純子、大西 真]

## 品質管理に関する業務

I. 4 価髄膜炎菌ワクチンに関する検定検査業務  
承認前検査の実施、SLP 導入のための書類整備を実施した。[川端寛樹、高橋英之]

II. 梅毒の体外診断薬の承認前検査  
承認前検査を行ったものは 1 件、化学発光 EIA 法によるもので、標品は規格試験合格となった。[中山周一]

## 国際協力関係業務

### I. 中南米血液スクリーニング講習会

今年度も JICA 主催の中南米検査関係者等に表記講習会で梅毒の講義を行った (H26 年 1 月当所)。[中山周一]

## 研修業務

I. 平成 25 年度希少感染症診断技術研修会<その他重要なトピック>「EHEC 検査法」平成 26 年 2 月 [石原朋子]

II. 地方衛生研究所 北海道・東北・新潟ブロックにおけるダニ媒介性感染症に関する研修会で新興回帰熱検査業務に関する講習を行った。平成 25 年 10 月 10-11 日。福島。[川端寛樹]

### III. レジオネラ属菌に関する講習会

1. 平成 25 年度生活衛生関係技術担当者研修会 (厚生労働省健康局生活衛生課) で、国際的なレジオネラ症対策の動向について、都道府県等の公衆浴場等生活衛生関係技術担当職員等約 300 名に講演した。2014 年 3 月、東京

都 [倉 文明]

2. レジオネラと環境衛生研修 (福岡市保健環境研究所) で、1 日目レジオネラ症総論、大規模レジオネラ症発生事例、レジオネラ検査法、レジオネラの衛生管理手法について講義し、2 日目森本 洋氏 (北海道立衛生研究所) と培養検査法 (斜光法) の研修を行なった。衛生研究所、保健所、衛生薬業センターの職員等が参加した。2 日目の培養法実習には福岡市、福岡県、北九州市、佐賀県、長崎県、熊本県市、宮崎県、沖縄県から合計 25 人の参加登録があった。2014 年 3 月、福岡市。[倉 文明]

## その他

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Kutsuna S, Kawabata H, Takano A, Kasahara K. Imported relapsing fever, Japan. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2013. 89(3): 460-461.
- 2) Kawabata H, Takano A, Kadosaka T, Fujita H, Nitta Y, Gokuden M, Honda T, Tomida J, Kawamura Y, Masuzawa T, Ishiguro F, Takada N, Yano Y, Andoh M, Ando S, Sato K, Takahashi H, Ohnishi M. Multilocus sequence typing and DNA similarity analysis implicates that a *Borrelia valaisiana*-related sp. isolated in Japan is distinguishable from European *B. valaisiana*. Journal of Veterinary Medical Science. 2013. 75(9): 1201-1207.
- 3) Inokuma S, Maetani S, Fujitsuka J, Takano A, Sato K, Fukui T, Masuzawa T, Kawabata H. Astasia and Pyrexia Related to *Borrelia garinii* Infection in Two Dogs in Hokkaido, Japan. Journal of Veterinary Medical Science. 2013. 75(7): 975-978.
- 4) Taylor K, Takano A, Konnai S, Shimozuru M, Kawabata H, Tsubota T. Differential tick burdens may explain differential *Borrelia afzelii* and *Borrelia garinii* infection rates among four, wild, rodent species in Hokkaido, Japan. Journal of Veterinary Medical Science. 2013. 75(6): 785-790.
- 5) Yamauchi T, Satô M, Ito T, Fujita H, Takada N, Kawabata H, Ando S, Sakata A, Takano A. Survey of tick fauna and tick-borne pathogenic bacteria in Rishiri Island, off north Hokkaido, Japan. International Journal of Acarology. 2013. 39(1), 3-6.

- 6) Motoi Y, Asano M, Inokuma H, Ando S, Kawabata H, Takano A, Suzuki M. Detection of *Rickettsia tamurae* DNA in ticks and wild boar (*Sus scrofa leucomystax*) skins in Shimane Prefecture, Japan. Journal of Veterinary Medical Science. 2013. 75(3), 263-267.
- 7) Murase Y, Konnai S, Githaka N, Hiden A, Taylor K, Ito T, Takano A, Ando S, Kawabata H, Tsubota T, Murata S, Ohashi K. Prevalence of Lyme borrelia in *Ixodes persulcatus* ticks from an area with a confirmed case of Lyme disease. Journal of Veterinary Medical Science. 2013. 75(2), 215-218.
- 8) Taylor K, Takano A, Shimotsuru, Konnai S, Kawabata H, Tsubota T. *Borrelia miyamotoi* infections among wild rodents show age and month independence and correlation with *Ixodes persulcatus* larval attachment in Hokkaido, Japan. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 2013. 13(2), 92-97.
- 9) Ohashi N, Gaowa, Wurito, Kawamori F, Wu D, Yoshikawa Y, Chiya S, Fukunaga K, Funato T, Shiojiri M, Nakajima H, Hamazu Y, Takano A, Kawabata H, Ando S, Kishimoto T. Human granulocytic anaplasmosis in Japan. Emerging Infectious Diseases. 2013. 19(2), 289-292.
- 10) Gaowa, Ohashi N, Aochi M, Wurito, Wu D, Yoshikawa Y, Kawamori F, Honda T, Fujita H, Takada N, Oikawa Y, Kawabata H, Ando S, Kishimoto T. Rickettsia-related pathogens in ticks, central to western Japan. Emerging Infectious Diseases. 2013. 19(2), 338-340.
- 11) Shimuta K, Unemo M, Nakayama S, Morita-Ishihara T, Dorin M, Kawabata T, Ohnishi M. Antimicrobial resistance and molecular typing of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Kyoto and Osaka, Japan in 2010-2012: Intensified surveillance after identification of the first strain (H041) with high-level ceftriaxone resistance. Antimicrob Agents Chemother. 57:5225-5232. 2013.
- 12) McMillan DJ, Drèze P, Vu T, Bessen DE, Guglielmini J, Steer AC, Carapetis JR, Melderen LV, Sriprakash KS, Smeesters PR, The M Protein Study Group. Updated model of group A *Streptococcus* M proteins based on a comprehensive worldwide study. Clin Microbiol Infect 19 (5): E222-E229, 2013.
- 13) Sudo N, Soma A, Muto A, Iyoda S, Suh M, Kurihara N, Abe H, Tobe T, Ogura Y, Hayashi T, Kurokawa K, Ohnishi M, Sekine Y. A novel small regulatory RNA enhances cell motility in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. J Gen Appl Microbiol. 2014; 60: 44-50.
- 14) Yamamoto S, Mitobe J, Ishikawa T, Wai SN, Ohnishi M, Watanabe H, Izumiya H. Regulation of natural competence by the orphan two-component system sensor kinase ChiS involves a non-canonical transmembrane regulator in *Vibrio cholerae*. Mol Microbiol 2014, 91:326-347
- 15) Sumiyama D, Izumiya H, Kanazawa T, Murata K. *Salmonella* infection in green anoles (*Anolis carolinensis*), an invasive alien species on Chichi Island of the Ogasawara archipelago in Japan. J Vet Med Sci. 2014 Mar;76(3):461-5.
- 16) Chiou CS, Izumiya H, Thong KL, Larsson JT, Liang SY, Kim J, Koh XP. A simple approach to obtain comparable *Shigella sonnei* MLVA results across laboratories. Int J Med Microbiol. 2013 Dec;303(8):678-84.
- 17) Mather AE, Reid SW, Maskell DJ, Parkhill J, Fookes MC, Harris SR, Brown DJ, Coia JE, Mulvey MR, Gilmour MW, Petrovska L, de Pinna E, Kuroda M, Akiba M, Izumiya H, Connor TR, Suchard MA, Lemey P, Mellor DJ, Haydon DT, Thomson NR. Distinguishable epidemics of multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium DT104 in different hosts. Science. 2013 Sep 27;341(6153):1514-7.
- 18) Larsson JT, Torpdahl M; MLVA working group (Izumiya H), Møller Nielsen E. Proof-of-concept study for successful inter-laboratory comparison of MLVA results. Euro Surveill. 2013 Aug 29;18(35):20566.
- 19) Nadon CA, Trees E, Ng LK, Møller Nielsen E, Reimer A, Maxwell N, Kubota KA, Gerner-Smidt P; MLVA Harmonization Working Group (Izumiya H). Development and application of MLVA methods as a tool for inter-laboratory surveillance. Euro Surveill. 2013 Aug 29;18(35):20565.
- 20) Izumiya H, Terajima J, Yamamoto S, Ohnishi M, Watanabe H, Kai A, Kurazono T, Taguchi M, Asai T, Akiba M, Matsumoto Y, Tamura Y. Genomic analysis of *Salmonella* enterica serovar Typhimurium definitive phage type 104. Emerg Infect Dis. 2013 May;19(5):823-5.
- 21) Morita M, Yamamoto S, Hiyoshi H, Kodama T, Okura M, Arakawa E, Alam M, Ohnishi M, Izumiya H, Watanabe

- H. Horizontal gene transfer of a genetic island encoding a type III secretion system distributed in *Vibrio cholerae*. *Microbiol Immunol.* 2013, 57: 334-339.
- 22) Mawatari M, Kato Y, Hayakawa K, Morita M, Yamada K, Mezaki K, Kobayashi T, Fujiya Y, Kutsuna S, Takeshita N, Kanagawa S, Ohnishi M, Izumiya H, Ohmagari N. *Salmonella enterica* serotype Paratyphi A carrying CTX-M-15 type extended-spectrum beta-lactamase isolated from a Japanese traveller returning from India, Japan, July 2013. *Eurosurveillance.* 2013, 18(46):pii=20632.
- 23) Tamura S, Taniguchi F, Nakamoto C, Nakamoto H, Arakawa E, Fukuchi T, Nakano Y, Fujimoto T. Fatal diarrheal disease caused by *Vibrio cholerae* O67 in a patient with myelodysplastic syndrome. *Intern Med.* 2013;52(14):1635-9.
- 24) Kiga, K., Mimuro, H., Suzuki, M., Shinozaki, A., Kobayashi, T., Sanada, T., Kim, M., Ogawa, M., Iwasaki, Y. W., Kayo, H., Fukuda-Yuzawa, Y., Yashiro, M., Fukayama, M., Fukao. T., Sasakawa, C. Epigenetic silencing of miR-210 increases the proliferation of gastric epithelium during chronic *Helicobacter pylori* infection. *Nat. Commun.* in press
- 25) Ikebe, T., Tominaga, K., Shima, T., Okuno, R., Kubota, H., Ogata, K., Chiba, K., Katsukawa, C., Ohya, H., Tada, Y., Okabe, N., Watanabe, H., Ogawa, M., Ohnishi, M., the Working Group For Beta-Hemolytic streptococci In Japan. Increased prevalence of group A *streptococcus* isolates in streptococcal toxic shock syndrome cases in Japan from 2010-2012. *Epidemiol. Infect.* in press.
- 26) Harada-Hada, K., Harada, K., Kato, F., Hisatsune, J., Tanida, I., Ogawa, M., Asano, S., Sugai, M., Hirata M., Kanematsu. T. Phospholipase C-related catalytically inactive protein participates in the autophagic elimination of *Staphylococcus aureus* infecting mouse embryonic fibroblasts. *PLoS One*, 9: e98285. (2013)
- 27) Chang, SY., Lee, SN., Yang, JY., Kim, DW., Yoon, JH., Ko, HJ., Ogawa, M., Sasakawa, C. Kweon, MN. Autophagy controls an intrinsic host defense to bacteria by promoting epithelial cell survival: a murine model. *PLoS One*, 8:e81095. (2013)
- 28) Hifumi T, Fujishima S, Chang B, Sasaki J, Kiriu N, Kato H, Inoue J, Koido Y. Fatal overwhelming postsplenectomy infection caused by *Streptococcus pneumoniae* in mothers within 1 year after delivery: case report. *J Infect Chemother* 2013, 19:1202-1205.
- 29) Otsuka T, Chang B, Wada A, Okazaki M. Molecular epidemiology and serogroup 6 capsular gene evolution of pneumococcal carriage in a Japanese birth cohort study. *J Med Microbio* 2013, 62: 1868-1875.
- 30) Ueno M, Ishii Y, Tateda K, Anahara Y, Ebata A, Iida M, Mizuno F, Inamura S, Takahata K, Suzuki Y, Chang B, Wada A, Sugita M, Tanaka T, Nishiwaki Y. Changes in *Streptococcus pneumoniae* Serotypes in the Nasopharynx of Japanese Children after Inoculation with a Heptavalent Pneumococcal Conjugate Vaccine. *Jpn J Infect Dis* 2014, 67:40-43.
- 31) Kanatani JI, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu M, Kura F, Sata T, Watahiki M: Molecular epidemiology of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates identify a prevalent sequence type, ST505, and a distinct clonal group of clinical isolates in Toyama prefecture, Japan. *J. Infect. Chemother.* 2013. 19:644-652.
- 32) Kanatani JI, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu M, Kura F, Sata T, Watahiki M: Close genetic relationship between *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from sputum specimens and puddles on roads by sequence-based typing. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013. 79:3959-3966.
- 33) Yamamoto K, Kato Y, Shindo T, Ujiie M, Takeshita N, Kanagawa S, Kunimatsu J, Tamori Y, Kano T, Okuno R, Takahashi H, Ohmagari N. Meningococemia due to the 2000 Hajj-Associated Outbreak Strain (Serogroup W-135 ST-11) with Immunoreactive Complications. *Jpn J. Infect Dis.* 2013, 66 (5):443-445.
- 34) Gamage CD, Koizumi N, Perera CAK, Muto M, Nwafor-Okoli C, Ranasinghe S, Kularatne SAM, Rajapakse JRPV, Kanda K, Lee RB, Obayashi Y, Ohnishi M, Tamashiro H. Carrier status of leptospirosis among cattle in Sri Lanka: A zoonotic threat to public health. *Transboundary Emerg Dis* 2014, 61:91-6.
- 35) Mishima N, Tabuchi K, Kuroda T, Nakatani I, Lamaningao P, Miyake M, Kanda S, Koizumi N, Nishiyama T. The first case in Japan of severe human leptospirosis imported from Vietnam. *Trop Med Health* 2013, 41:171-6.

- 36) Widiyanti D, Koizumi N, Fukui T, Muslich L, Segawa T, Villanueva S, Saito M, Masuzawa T, Gloriani N, Yoshida S. Development of immunochromatography-based methods for detection of leptospiral lipopolysaccharide antigen in urine. *Clin Vaccine Immunol* 2013, 20: 683-90.
- 37) Koizumi N, Mizutani Muto M, Akachi S, Okano S, Yamamoto S, Horikawa K, Harada S, Funatsumaru S, Ohnishi M. Molecular and serological investigation of *Leptospira* and leptospirosis in dogs in Japan. *J Med Microbiol* 2013, 62: 630-6.
- 38) Yoneda S, Kawarai T, Narisawa N, Tuna EB, Sato N, Tsugane T, Saeki Y, Ochiai K, Senpuku K. Effects of short-chain fatty acids on *Actinomyces naeslundii* biofilm formation. *Mol Oral Microbiol*. 2013, 28: 354-365.
- 39) Araki M, Hoshi K, Fujiwara M, Sasaki Y, Yonezawa H, Senpuku H, Iwamoto-Kihara A, and Maeda M. Complementation of Foc subunit of *Escherichia coli* with that of *Streptococcus mutans* and the properties of the hybrid Fof1-ATP synthase. *J Bacteriol*. 2013, 195: 4873-4878.
- 40) Satoh K, Narita T, Matsuki-Fukushima M, Okabayashi K, Yamazaki F, Arai T, Ito T, Senpuku H, Sugiya H. A novel animal model for dry mouth, E2f1-deficient NOD/SCID mice. *Review. J Oral Biosc*. 2014, 56: 18-22.
- 41) Nakao R, Takashiba S, Kosono S, Yoshida M, Watanabe H, Ohnishi M, Senpuku H. Effect of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles on gingipain mediated detachment of cultured oral epithelial cells and immune responses. *Microb Infect*. 2014, 16: 6-16.
- 42) Tada A, Watanabe M, Senpuku H. Factors influencing compliance with infection control practice in Japanese dentists. *Intern J Occup Environ Med*. 2014, 5: 24-31.
- 43) Nakao R, Takashiba S, Kosono S, Yoshida M, Watanabe H, Ohnishi M, Senpuku H. : Effect of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles on gingipain-mediated detachment of cultured oral epithelial cells and immune responses. *Microb Infect* 2014, 16(1):6-16.
- 44) Takayama Y, Nakayama S, Shimuta K, Morita-Ishihara T, Ohnishi M. Characterization of azithromycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Tokyo in 2005-2011. *J Infect Chemother*. 2014 20, 339-341.
- 45) Kasahara K, Komatsu Y, Koizumi A, Chang B, Ohnishi M, Muratani T, Mikasa K. Serotype 35B *Streptococcus pneumoniae*, Japan, 2002-2012. *J Infect Chemother*. 2014 20, 228-230.
- 46) Ohnishi M, Unemo M. Phylogenomics for drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Lancet Infect Dis*. 2014 Mar;14(3):179-80. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70700-X. Epub 2014 Jan 22. PubMed PMID: 24462210.
- 47) Isobe J, Shima T, Kanatani J, Kimata K, Shimizu M, Kobayashi N, Tanaka T, Iyoda S, Ohnishi M, Sata T, Watahiki M. Serodiagnosis using microagglutination assay during the food-poisoning outbreak in Japan caused by consumption of raw beef contaminated with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 and O157. *J Clin Microbiol*. 2014 52, 1112-1128.
- 48) Chen SC, Yin YP, Dai XQ, Yu RX, Han Y, Sun HH, Ohnishi M, Unemo M, Chen XS. Prevalence and molecular epidemiological typing of penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* and their bla(TEM-135) gene variants in Nanjing, China. *Sex Transm Dis*. 2013 40, 872-876.
- 49) Goire N, Lahra MM, Ohnishi M, Hogan T, Limnios AE, Nissen MD, Sloots TP, Whitley DM. Polymerase chain reaction-based screening for the ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* F89 strain. *Euro Surveill*. 2013 18, 20444.
- 50) Tomberg J, Unemo M, Ohnishi M, Davies C, Nicholas RA. Identification of amino acids conferring high-level resistance to expanded-spectrum cephalosporins in the *penA* gene from *Neisseria gonorrhoeae* strain H041. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013, 57, 3029-3036.

## 2. 和文発表

- 1) 石原朋子、大西真. 検査法：耐性淋菌の実態と治療薬の選択. *感染症内科*. 1:399-407. 2014.
- 2) 佐藤寛子, 柴田ちひろ, 佐藤了悦, 齊藤志保子, 高橋守, 藤田博己, 高田伸弘, 川端寛樹, 高野 愛, 須藤恒久. アカツツガムシ親和性 Kato 型つつが虫病患者の確認を受けての秋田県雄物川流域における調査成績(2009). *衛生動物*. 2013. 64(1), 21-25.

- 3) 藤田博己, 矢野泰弘, 高田伸弘, 安藤秀二, 川端寛樹, 藤田信子. 2012年までに確認できた福島県のマダニ類とマダニ媒介リケッチア. 衛生動物. 2013. 64(1), 37-41.
- 4) 夏秋 優, 高田伸弘, 川端寛樹, 佐藤 梢, 高野 愛. タカサゴキアラマダニ刺症に伴う遊走性紅斑: Tick-associated rash illness (TARI). 衛生動物. 2013. 61(1), 47-49.
- 5) 夏秋 優, 高田伸弘, 高嶋渉, 熊切正信, 川端寛樹, 佐藤 梢, 高野 愛. シュルツェマダニ刺症で環状紅斑を呈したがライム病ボレリア感染は確認できない症例についての新たな見解. 衛生動物. 2013. 64(1), 51-54.
- 6) 岩田健太郎, 島田智恵, 川端寛樹. 感染症内科外来で診断に1年以上を要したライム病の1例. 感染症学雑誌. 2013. 87(1), 44-48.
- 6) 池辺忠義. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の歴史. 化学療法の領域 医薬ジャーナル社 29 (7): 1410-1413 (2013).
- 7) 阿戸学, 池辺忠義, 渡邊治雄. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の分子メカニズム. 日本臨床微生物学雑誌. 23 (2): 79-86 (2013).
- 8) 伊豫田淳. 下痢原性大腸菌の病原性. 感染と消毒, 20:22-26, 2013
- 9) 荒川英二, 宮原美知子. 食品・環境からの腸炎ビブリオの検出 V. 検出, 同定, タイピング 2. 食品・環境からの検出 p.197-201 近代出版 腸炎ビブリオ第IV集(2013)
- 10) 前川純子, 倉 文明, 大西 真, 渡辺ユウ, 渡辺祐子, 磯部順子, 田中 忍, 中嶋 洋, 吉野修司: レジオネラ臨床分離株の型別-レファレンスセンター活動報告として, 病原微生物検出情報. 2013. 34(6):161-163.
- 11) 金谷潤一, 磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 清水美和子, 佐多徹太郎, 綿引正則, 前川純子, 倉 文明: 水たまりからのレジオネラ検出状況-富山県, 病原微生物検出情報. 2013. 34(6):163-164.
- 12) 中嶋 洋, 大島律子, 河合央博, 前川純子, 倉 文明, 藤井寛之, 黒川幸徳, 船橋圭輔, 田中知徳, 吉岡明彦, 宮井泰三: 患者由来 *Legionella pneumophila* 血清群 3 sequence type 93 の疫学調査-岡山県, 病原微生物検出情報. 2013. 34(6):164-165.
- 13) 烏谷竜哉, 荒井桂子, 磯部順子, 金谷潤一, 緒方喜久代, 泉山信司, 八木田健司, 矢崎知子, 吉崎美和, 倉 文明: レジオネラ生菌の迅速検査, 病原微生物検出情報. 2013. 34(6):165-167.
- 14) 黒木俊郎, 渡辺祐子, 寺西 大, 佐々木美江, 藤田雅弘, 荒井桂子, 杉山寛治, 磯部順子, 中嶋 洋, 田栗利紹, 緒方喜久代, 倉 文明: ATP 測定による入浴施設の衛生管理・レジオネラ汚染リスク評価, 病原微生物検出情報. 34(6):167-168.
- 15) 佐原啓二, 神田 隆, 八木美弥, 道越勇樹, 杉山寛治, 縣 邦雄, 江口大介, 市村祐二, 久保田 明, 富田敦子, 片山富士男, 神野透人, 小坂浩司, 泉山信司, 八木田健司, 遠藤卓郎, 倉 文明: 浴槽水のモノクロラミン消毒, 病原微生物検出情報. 2013. 34(6):168-169.
- 16) 倉 文明, 前川純子: レジオネラ症-最近の多様な感染源, 病原微生物検出情報. 2013. 34(6):169-170.
- 17) 中臣昌広 著, 倉 文明 監修: レジオネラ症対策のてびき, 一般財団法人日本環境衛生センター, 2013年10月25日第1版発行. 109頁
- 18) 志牟田健, 黒木俊朗淋菌感染症 梅毒 性器クラミジア感染症 臨床内科 科学評論. 2013: 1(4);391-398
- 19) 高橋英之, 大西真, 侵襲性髄膜炎菌感染症, 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ, No. 26, 765-768, 2013.
- 20) 高橋英之, 大西真, 髄膜炎菌, 病原体の今日的意味 改訂4版, 312-319, 2013.
- 21) 岡野祥, 新垣絵理, 高良武俊, 加藤峰史, 仁平稔, 喜屋武向子, 久高 潤, 饒平名長令, 前津政将, 桑江沙耶香, 大屋記子, 宮川桂子, 小坂文昭, 松本奈央, 伊勢川拓也, 島袋彰, 中川吉丈, 北澤篤志, 松本裕子, 橋本洋, 梶田弘子, 岩渕香織, 齋藤幸一, 小泉信夫, 大西真. 2013年に沖縄県西表島で発生したレプトスピラ症. 病原微生物検出情報 2014, 35:14-5.
- 22) 小泉信夫, 大西真. レプトスピラ症. 感染症内科 2014, 2:159-64.
- 23) 小泉信夫, 大西真. レプトスピラ感染症(レプトスピラ症, ワイル病). 別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズ No. 24 感染症症候群(第2版)(上)病原体別感染症編. 日本臨床社 大阪府 257-260, 2013.
- 24) 三浦美穂, 伊東愛梨, 矢野浩司, 吉野修司, 大浦裕子, 古家隆, 名越秀樹, 小泉信夫, 大西真. 日本紅斑熱が疑われたレプトスピラ症の1例-宮崎県. 病原微生物検出情報 2013, 34:111-2.
- 25) 小泉信夫, 武藤麻紀, 大西真. コンパニオンアニマルにおけるレプトスピラ症. SAC 2013, 172:17-22.
- 26) 小泉信夫, 大西真, 安富一郎. 人獣共通感染症としてのレプトスピラ症. 臨床獣医 2013, 31:39-42.
- 27) 小泉信夫, 大西真. レプトスピラ症の現状. 獣医畜産新報 2013, 66:252-4.

- 28) 小泉信夫, 岡野祥, 大西真. レプトスピラ症. 化学療法の領域 2013, 29:670-8.
- 29) 小泉信夫, 大西真. レプトスピラ症. 小児科 2013, 54:43-8.

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Yamamoto S. A novel transmembrane regulator controls transcription of the *tfoR* gene, encoding a small RNA activator for the competence regulon in *Vibrio cholerae*. The 3<sup>rd</sup> Conference on Regulating with RNA in Bacteria, Wurzburg, June, 2013.
- 2) Amemura-Maekawa J, Koyano M, Yamazaki T, Murai M, Ohnishi M, Kura F. Identification of *Legionella pneumophila* subspecies in clinical and environmental isolates in Japan using the microplate DNA-DNA hybridization method. 8th International Conference on *Legionella*, Melbourne, Oct. 2013.
- 3) Kanatani J-I, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu T, Amemura-Maekawa J, Kura F, Sata T, Watahiki M. Close genetic relationship between *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from sputum specimens and puddles on roads by sequence-based typing. 8th International Conference on *Legionella*, Melbourne, Oct. 2013.
- 4) Sahara K, Sugiyama K, Agata K, Eguchi D, Ichimura Y, Jinno H, Kosaka K, Izumiyama S, Yagita K, Katayama F, Tomita A, Michikoshi Y, Yagi M, Tanaka Y, Endo T, Kura F. Sanitary control of circulating bath water by monochloramine disinfection. The 8th International Conference on *Legionella* 2013. Melbourne. October 2013
- 5) Kura F, Amemura-Maekawa J, Ohnishi M, Saito T, Kinoshita H, Yoshikura H, Sunagawa T, Ohishi K: Epidemiology of legionellosis in Japan, Jan 2008 ~ Dec 2012. The 8th International Conference on *Legionella* 2013. Melbourne. October 2013.
- 6) Kitashoji E, Lacuesta TL, Suzuki M, Usuda D, Kojiro M, Dimaano EM, Villarama JB, Ariyoshi K, Koizumi N. Recombinant leptospiral immunoglobulin-like protein A-based IgM ELISA assay for the diagnosis of leptospirosis. 62nd Annual Meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene, USA, November, 2013.
- 7) Fujita R, Koizumi N, Sugiyama H, Sato R, Ohnishi M. Comparison of virulence between two *Leptospira interrogans* strains using a hamster model of leptospirosis. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.
- 8) Mizutani Muto M, Koizumi N, Izumiya H, Ohnishi M. Molecular and serological characterization of *Leptospira interrogans* canine isolates and their influence on clinical features of leptospirosis in dogs. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.
- 9) Toma C, Murray GL, Higa N, Nakasone N, Nohara T, Takaesu G, Koizumi N, Adler B, Suzuki T. Analysis of the bacterial factors involved in *Leptospira interrogans*-macrophage interactions. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.
- 10) Kitashoji E, Lacuesta TL, Suzuki M, Usuda D, Kojiro M, Dimaano EM, Villarama JB, Ariyoshi K, Koizumi N. The validity of recombinant leptospiral immunoglobulin-like A protein-based IgM ELISA assay for the diagnosis of leptospirosis in Metro Manila, the Philippines. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.
- 11) Widiyanti D, Koizumi N, Fukui T, Muslich LT, Segawa T, Villanueva SYAM, Saito M, Masuzawa T, Gloriani NG, Yoshida S. Novel immunochromatography-based methods for detection of leptospiral antigen in human urine. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.
- 12) Gamage CD, Shiokawa K, Koizumi N, Kularatne SAM, Rajapakse JRPV, Nwafor-Okoli C, Yoshimatsu K, Arikawa J. The impact of two recombinant antigens base ELISA assay to diagnose leptospirosis. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.
- 13) Shiokawa K, Gamage CD, Koizumi N, Nishio S, Koarashi Y, Ysuda Y, Shimizu K, Yoshimatsu K, Arikawa J. Application of recombinant LigA and LipL32 to the lateral flow immunoassay for the detection of pathogenic *Leptospira* spp. specific IgG in rodent sera. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.
- 14) Senpuku H, Yoneda S, Saeki Y, Ochiai K. Effects of short-chain fatty acids on *Actinomyces naeslundii* biofilm formation. Montecatini Terme, Italy, Jun 23-26, 2013.
- 15) Tada A, Senpuku H. Factors influencing compliance with infection control practice in Japanese dentists the 2nd Meeting of the International Association of Dental

- Research-Asia Pacific Region (IADR-APR), Bangkok, Thailand from 21 to 23 August 2013.
- 16) Moteji M, Yonezawa H, Senpuku H. Roles of genes to aggregation and biofilm formation in the *Streptococcus mutans*. Eurobiofilm 2013, Belgium, Gent, September 9-12, 2013.
- 17) Arai T, Saeki Y, Mohri S, Ochiai K Sempuku H, Effects of extract from potherb mustard on the biofilm formation of *Actinomyces naeslundii* Eurobiofilm 2013, Belgium, Gent, September 9-12, 2013.
- 18) Takeuchi H, Murata T, Kakuta E, Nomura Y, Senpuku H Hanada N. Investigation on the control of odontogenic bacteremia. 10th World Congress on Preventive Dentistry of the International Association for Dental Research, Budapest, Hungary, October 9-12, 2013.
- 19) Nakao R, Wai SN, Uhlin BE. Enhanced biofilm formation by *Escherichia coli* carrying a commonly occurring plasmid gene, "kil". Nobel Conference on Biofilm formation, its clinical impact and potential treatment, Stockholm, Sweden, Aug, 2013.
- 20) Ramstedt M, Nakao R, Leone L, Shchukarev A, Persson P, Boily JF, Wai SN, Uhlin BE. X-ray photoelectron spectroscopy of intact bacterial cells can help evaluate changes in cell wall composition with respect to lipid, sugar and peptide containing compounds. Nobel Conference on Biofilm formation, its clinical impact and potential treatment, Stockholm, Sweden, Aug, 2013.
- 21) Nakao R, Takashiba S, Kosono S, Yoshida M, Watanabe H, Ohnishi M, Senpuku H.: Effect of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles on gingipain-mediated detachment of cultured oral epithelial cells and immune responses. British Society for Immunology BSI 2013. Liverpool, UK, Dec, 2013.
- 22) Bai D, Nakao R, Senpuku H. Immunoreactive antigens recognized by sera of mice intranasally immunized with outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis*. British Society for Immunology BSI 2013. Liverpool, UK, Dec, 2013.
2. 国内学会
- 1) 石原朋子、寺嶋淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、大西真. 2013年における O157:H7 を中心とした EHEC の動向. 第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年.
- 2) 大川元、郡山洋一郎、青木真理子、中村由美子、石原朋子、伊豫田淳. 保育所で発生した腸管出血性大腸菌 O103 及び O26 の集団感染事例について. 第 26 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会研究会、東京、2014 年.
- 3) 豊間根耕地, 今内 覚, 伊東拓也, 川端寛樹, 高野 愛, 安藤秀二, 村田史郎, 大橋和彦. シュルツェマダニ由来免疫抑制因子の同定および機能解析. 第 156 回日本獣医学会学会学術集会. 2013 年 9 月. 岐阜.
- 4) 大久保 (佐藤) 梢, 野一色香織, 林 武志, 柳井徳磨, 高野 愛, 川端寛樹. 猟犬を歩哨動物としたボレリア感染症の疫学調査. 第 156 回日本獣医学会学会学術集会. 2013 年 9 月. 岐阜.
- 5) 宇田晶彦, 福士秀悦, 加来義浩, 藤田 修, 井上 智, 吉河智城, 下島昌幸, 新倉 綾, 安藤秀二, 川端寛樹, 高野 愛, 前田 健, 藤田博己, 澤邊京子, 西條政幸, 森川 茂. マダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出. 第 156 回日本獣医学会学会学術集会. 2013 年 9 月. 岐阜.
- 6) 高野 愛, 川端寛樹, 大久保 (佐藤) 梢, 中尾 稔, 伊東拓也, カイル テイラー, 李 景利, 坪田敏男, 今内 覚, 吉村英紘, 豊間根耕地, 村田史郎, 大橋和彦. 国内に潜在すると考えられる新興回帰熱に関する疫学調査研究. 第 156 回日本獣医学会学会学術集会. 2013 年 9 月. 岐阜.
- 7) 野一色香織, 濱野剛久, 酒井洋樹, 柳井徳磨, 今岡浩一, 棚林清, 川端寛樹, 木村昌伸, 野上貞雄. 猟犬における野外感染症抗体保有状況に関する研究: 東北地方を中心として. 第 19 回野生動物医学会大会. 2013 年 8 月.
- 8) 忽那賢志, 川端寛樹, 早川佳代子, 氏家無限, 竹下望, 加藤康幸, 金川修造, 大曲貴夫. Relapsing fever in Algeria diagnosed through SNS. 第 87 回日本感染症学会学術講演会. 2013 年 6 月. 横浜.
- 9) 夏秋 優, 高田伸弘, 川端寛樹, 佐藤 梢, 高野 愛, 安藤秀二. タカサゴキララマダニ刺症に伴う遊走性紅斑: Tick-associated rash illness. 第 65 回日本衛生動物学会大会. 2013 年 4 月. 江別.
- 10) 池辺忠義、奥野ルミ、緒方喜久代、大屋日登美、渡邊治雄、小川道永、大西真. Increase of group A *streptococcus* isolates in streptococcal toxic shock syndrome cases in Japan. 第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月.
- 11) 松村隆之、池辺忠義、阿戸学. The defensive role of immature myeloid cells in severe invasive group A *Streptococcus* infections. 第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月.
- 12) 土屋勅、松村隆之、池辺忠義、小林和夫、阿戸学. *Fat-1* transgenic mice are more susceptible to severe invasive group A *Streptococcus* infections. 第 87 回日本細菌

- 菌学会総会、東京、2014年3月。
- 13) 道林美里、志牟田健、中山周一、石原朋子、齋藤良一、大西真。セフトリアキソン耐性非病原性 *Neisseria* 属菌が保持する PBP2 モザイク構造の解析。第 87 回日本細菌学会総会 2014年3月 東京
  - 14) 伊豫田淳。2012年腸管出血性大腸菌の動向について。第34回衛生微生物技術協議会 シンポジウムIV 腸管出血性大腸菌、名古屋、2013。
  - 15) 井口 純、秋吉充子、伊豫田淳、勢戸和子、大西真。E. coli O-genotyping PCR により判定できなかった STEC 株の O 抗原コード領域の解析。第34回日本食品微生物学会学術総会、東京、2013。
  - 16) 秋吉充子、井口純、伊豫田淳、勢戸和子、大西真。E. coli O-genotyping PCRの実用性評価。第34回日本食品微生物学会学術総会、東京、2013。
  - 17) 伊豫田淳、井口純、齋藤剛仁、石原朋子、大西真。溶血性尿毒症症候群の血清診断による腸管出血性大腸菌感染症の確定診断法。第87回日本細菌学会総会、東京、2014。
  - 18) 谷千尋、伊豫田淳、石原 朋子、齋藤良一、大西真。腸管出血性大腸菌における non-LEE 3型エフェクターのレギュロン解析。第87回日本細菌学会総会、東京、2014
  - 19) 山本章治、三戸部治郎、大西真、渡邊治雄、泉谷秀昌。コレラ菌のキチン誘導型コンピテンスを支配する非典型的なシグナル伝達機構。第 87 回日本細菌学会総会（ワークショップ：細菌の環境シグナル受容体と遺伝子調節ネットワーク）、東京、2014年3月。
  - 20) 泉谷秀昌：食品を介した抗生物質耐性菌の世界的感染拡大について。第 34 回日本食品微生物学会学術総会、2013年10月、東京都。
  - 21) 泉谷秀昌、関塚剛史、黒田誠、大西真：サルモネラ病原性因子パネルの検討について。第 87 回日本細菌学会総会、2014年3月、東京都。
  - 22) 森田昌知、泉谷秀昌、大西真：2013年に日本国内で分離されたチフス菌・パラチフス A 菌の各種薬剤感受性の検討 第 53 回感染性腸炎学会総会、東京、2014年3月
  - 23) 竹村 太地郎、時沢 亜佐子、荒川 英二、仲宗根 昇、大西真、山城 哲。V. cholerae のもつ CRISPR/Cas の解析 第 87 回日本細菌学会総会 2014年、東京
  - 24) 小川道永。細胞内侵入細菌と選択的オートファジーの攻防 第 24 回日本生体防御学会学術総会、熊本、2013年7月
  - 25) 常彬、細矢光亮、石和田稔彦、大石智洋、小田慈、佐藤哲也、岡田賢司、西順一郎、安慶田英樹、大西真、庵原俊昭。小児用肺炎球菌結合型ワクチン PCV7 導入が小児侵襲性感染症へ及ぼす影響の細菌学的解析。第 87 回日本感染症学会学術講演会、第 61 回日本化学療法学会総会合同学会、横浜、2013年6月。
  - 26) 高橋幸子、田中純子、高橋喜子、及川純子、菱木はるか、石和田稔彦、常彬、静野健一、石和田文栄、阿部克昭、星野直、会沢治朗、河野陽一。小児市中肺炎に対する 7 価肺炎球菌結合型ワクチン導入の影響。第 87 回日本感染症学会学術講演会、第 61 回日本化学療法学会総会合同学会、横浜、2013年6月。
  - 27) 成相昭吉、常彬。PCV7 接種普及による乳幼児下気道感染症例の上咽頭由来肺炎球菌株における血清型とペニシリン感受性の経年的変化。第 17 回日本ワクチン学会学術集会、津市、2013年11月。
  - 28) 成相昭吉、常彬。血清型 6B・遺伝子型 4250 による肺炎を 5 回発症後、血清型 6A に serotype switching した遺伝子型 4250 による肺炎を生じた重症心身障がい児：Group6 サブタイプの遺伝子型の検討。第 17 回日本ワクチン学会学術集会、津市、2013年11月。
  - 29) 牧野友彦、常彬、大石和徳、庵原俊昭。小児の侵襲性肺炎球菌感染症に対するワクチンの効果：発生動向と血清型分析。第 17 回日本ワクチン学会学術集会、津市、2013年11月。
  - 30) 田村和世、石和田稔彦、常彬、明田幸宏、庵原俊昭、大石和徳。2013年。日本における IPD 罹患小児の 7 価肺炎球菌コンジュゲートワクチンへの免疫応答。第 17 回日本ワクチン学会学術集会、津市、2013年11月。
  - 31) 前川純子、倉 文明、渡辺祐子、磯部順子、田中 忍、中嶋 洋、吉野修司、大西 真：*Legionella pneumophila* 臨床分離株の遺伝子解析による分類。第 87 回日本感染症学会総会、横浜、2013年6月。
  - 32) 前川純子、倉 文明、渡辺祐子、磯部順子、田中 忍、中嶋 洋、吉野修司、大西 真：*Legionella pneumophila* 血清群 1 環境分離株の遺伝子解析による分類。第 87 回日本感染症学会総会、横浜、2013年6月。
  - 33) 村井美代、前川純子：黄色ブドウ球菌のファイブロネクチン結合タンパクにおける多型の解析、第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014年3月
  - 34) 金谷潤一、磯部順子、木全恵子、嶋 智子、清水美和子、倉 文明、佐多徹太郎、綿引正則：アスファルト道路の水たまり由来 *Legionella pneumophila* 血清群 1 群の遺伝子解析。第 87 回日本感染症学会学術講演会、2013年6月、横浜。
  - 35) 佐原啓二、杉山寛治、縣邦雄、江口大介、市村祐二、

- 神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、片山富士男、富田敦子、道越勇樹、八木美弥、田中慶郎、遠藤卓郎、倉文明：モノクロラミンによる循環式浴槽の消毒効果について—営業施設における検証試験—、日本防菌防黴学会第40回年次大会、2013年9月、豊中市。
- 36) 烏谷竜哉、泉山信司、吉崎美和、荒井桂子、磯部順子、緒方喜久代、金谷潤一、矢崎知子、八木田健司、倉文明：液体培養 (Liquid Culture) EMA-qPCR法を用いたレジオネラ生菌迅速検査法の評価、日本防菌防黴学会第40回年次大会、2013年9月、豊中市。
- 37) 倉文明、前川純子：呼吸器感染症の企画パネル、レジオネラ症、感染研の一般公開、2013年10月、東京。
- 38) 倉文明：レジオネラ症に関する最新の知見、地研全国協議会関東甲信静支部平成25年度細菌研究部会総会・研究会、招請講演、2014年2月、東京都。
- 39) 倉文明：国際的なレジオネラ症対策の動向、平成25年度生活衛生関係技術担当者研修会、2014年3月、東京都。
- 40) 倉文明：レジオネラ症総論、レジオネラ症を予防するために、レジオネラと環境衛生研修会、福岡市保健環境研究所、2014年3月、福岡市。
- 41) 田原 麻衣子、香川(田中) 聡子、岡元 陽子、杉山 寛治、五十嵐 良明、倉文明、神野 透人：LC/MS/MSを用いた直接分析法による水中のハロ酢酸類の定量、日本薬学会第134年会、2014年3月、熊本市。
- 42) 道林美里、志牟田健、石原朋子、中山周一、保科眞二、齋藤良一、大西真：咽頭由来 *Neisseria* 属細菌は CRO 耐性淋菌 H041 型 penA 遺伝子を保持しているか 第96回日本細菌学会関東支部総会、東京、2013年10月
- 43) 志牟田健、渡辺祐子 黒木俊朗 大西真：セフィキシム非感受性株の多様性形成について、日本性感染症学会 第26回学術大会、岐阜市、2013年11月
- 44) 志牟田健：セフトリアキソン高度耐性淋菌 H041 株出現後の京都府と大阪府(2010-2012年)で分離された淋菌株の性状解析。京滋奈和性感染症研究会、京都市2013年12月
- 45) 志牟田健、高橋英之 大西真：尿道炎由来髄膜炎菌の性状解析 第86回日本細菌学会総会、東京、2014、3月
- 46) 高橋英之、大西真：GltT-GltM トランスポーターを介した髄膜炎菌の宿主細胞侵入に関与する遺伝子の転写及び翻訳レベルでの網羅的解析、第87回日本細菌学会総会、東京、2014年3月
- 47) ホルロ、中島千絵、小泉信夫、鈴木定彦、服部俊夫。レプトスピラ症患者の血漿および尿中のバイオマーカーの解析。第51回レプトスピラシンポジウム、東京、2014年3月。
- 48) 藤田理恵、小泉信夫、杉山広、佐藤令一、大西真。病原性の異なるレプトスピラを感染させたハムスターの比較解析。第51回レプトスピラシンポジウム、東京、2014年3月。
- 49) Marvin Villanueva, 小泉信夫、鈴木定彦、中島千絵。Epidemiological study of leptospirosis among water buffalo (*Bubalus bubalis*) in the Philippines. 第87回日本細菌学会総会、東京、2014年3月。
- 50) 藤田理恵、小泉信夫、杉山広、大西真。Comparison of virulence between two *Leptospira* strains using a hamster model of leptospirosis. 第87回日本細菌学会総会、東京、2014年3月。
- 51) 小泉信夫。スリランカ・フィリピンにおけるレプトスピラ症の現状。第87回日本細菌学会総会、東京、2014年3月。
- 52) 小泉信夫。本邦における犬レプトスピラ症の実態。平成25年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会(千葉)。千葉県、2014年2月。
- 53) 泉福英信、歯科医療における院内感染対策導入のための意識改革、第33回日本歯科薬物療法学会、第2回日本歯科薬物療法学会認定制度教育講演会、東京、2013年6月15日。
- 54) 荒井俊明、落合邦康、毛利彰太、佐伯洋二、泉福英信、酪酸に依存した *Actinomyces naeslundii* のバイオフィーム形成を阻害する物質の検討、第55回歯科基礎医学会、岡山、2013年9月。
- 55) 中尾龍馬、泉福英信、密度勾配遠心法で精製された *Porphyromonas gingivalis* 外膜ヴェシクル〜その構造と機能〜第55回歯科基礎医学会、岡山、2013年9月。
- 56) 泉福英信、中尾龍馬、大西真、化合物 polypyrrole の *S. mutans* バイオフィーム形成に対する効果、第86回日本細菌学会総会、東京、2014年3月。
- 57) 稲葉知大、八幡穰、泉福英信、野村暢彦、Sucrose によって分泌促進される細胞外 DNA は、*Streptococcus mutans* のバイオフィーム構造を強化する、第86回日本細菌学会総会、東京、2014年3月。
- 58) 中尾龍馬、尾花望、野村暢彦、大西真、泉福英信、*P. gingivalis* membrane vesicle bin to epoxy groups on magnetic beads in a species-specific manner. 第

86回日本細菌学会総会、東京、2014年3月。