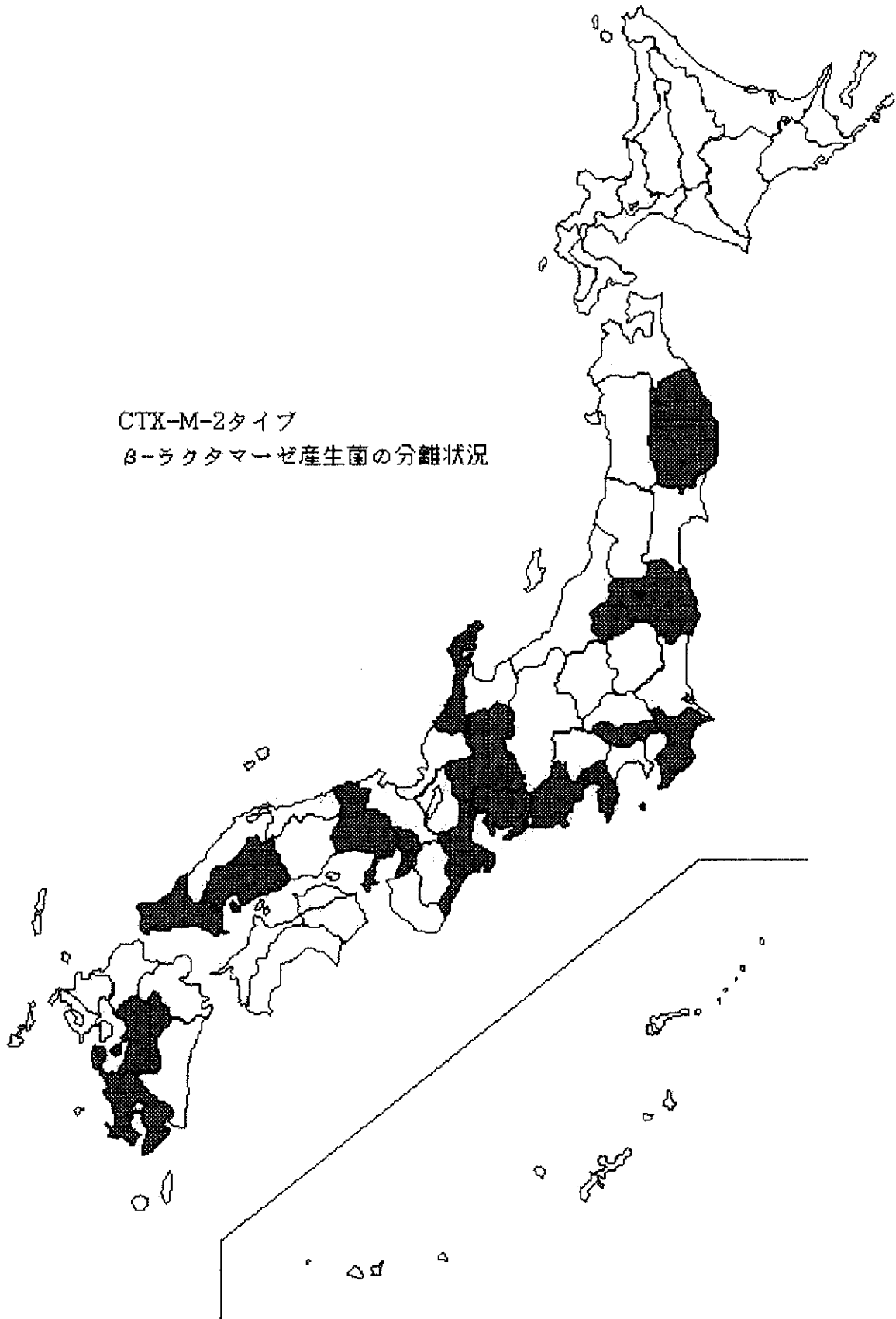


CTX-M-1タイプ  
β-ラクタマーゼ産生菌の分離状況

CTX-M-2タイプ  
β-ラクタマーゼ産生菌の分離状況



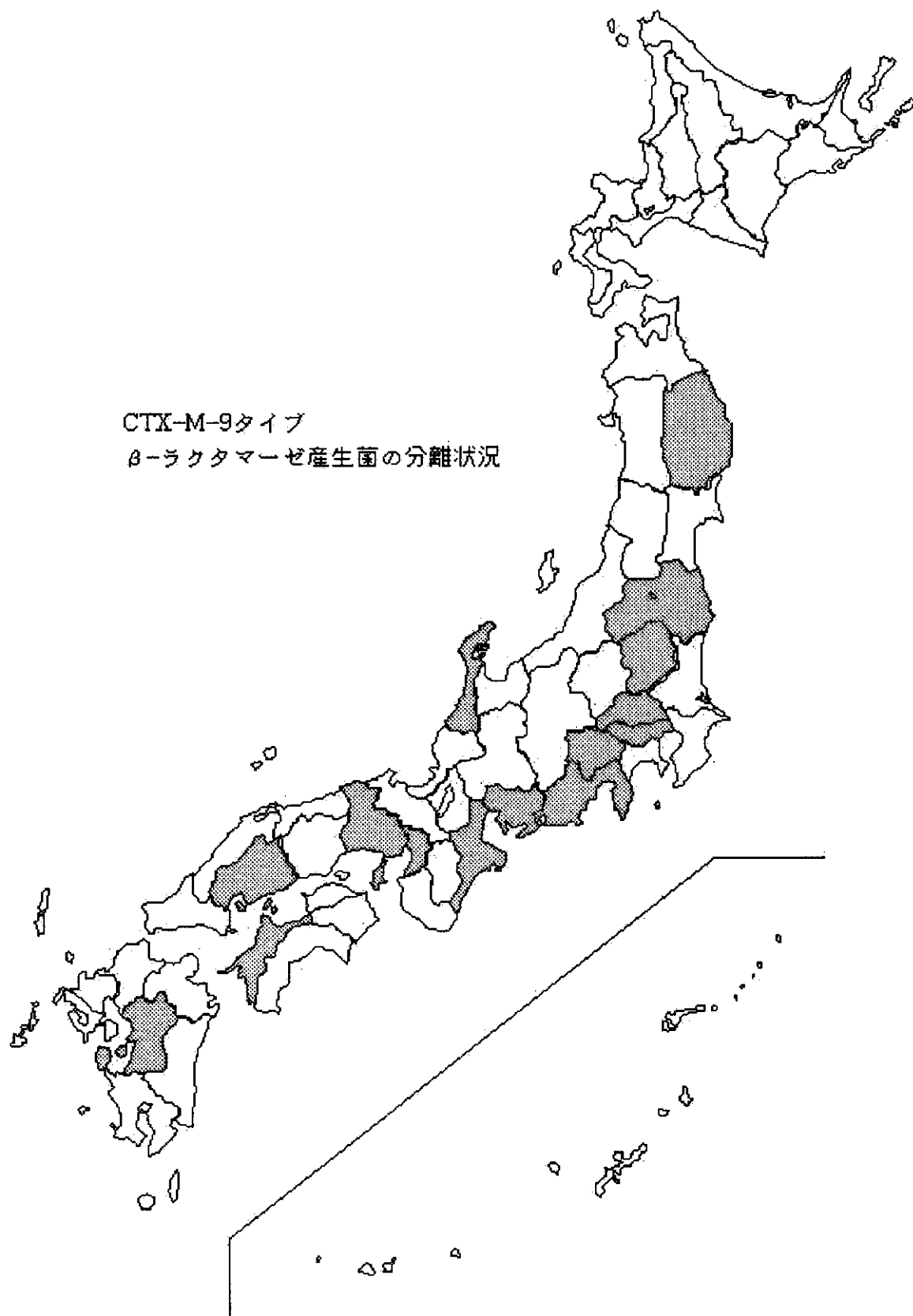


図6. CTX-M-タイプβ-ラクタマーゼ産生菌の国内分離状況

## 16. 赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)症の血清診断法の標準化及びその普及

分担研究者 遠藤 卓郎 (国立感染症研究所寄生動物部長)

共同研究者 八木田 健司 (国立感染症研究所寄生動物部)  
大谷 勝美 (山形県衛生研究所微生物部)  
宮坂 次郎 (熊本県保健環境科学研究所微生物科学部)

**研究要旨** 寄生虫・原虫症の分野においては、クリプトスポリジウムやサイクロスポラ、マラリアなど疾病が多様化する一方で、地方や大学、その他の地域医療機関に専門家が極めて少ない現状にあり、国主導の研究と、成果の地方への普及・啓発が必要である。その中で、4類感染症である赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)感染症の診断に関しては形態学的同一種である*E. dispar*(非病原性)との鑑別診断が重要となっている。両者の鑑別には患者ペア血清を用いた抗体価変化を指標とすることが可能なことから、ELISA法による抗体測定方法の標準化を目指した。わが国の現状では市販の診断用キットが入手しやすい状況にないことから、地研等への抗体検査技術の普及と検査用抗原の供給体制の整備に努めた。あわせて、ELISA法がクリプトスポリジウム症の血清診断として有用であることを示したことで、今後の疫学調査への利用が期待される。当該研究の成果は検査法マニュアル等に逐次反映させ、情報提供してきたところであるが、飲料水汚染や輸入感染症対策の一環として反映・機能している。

### A. 研究目的

4類感染症である赤痢アメーバ症の診断に関してはいわゆる赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)と感染病原性を持たないとされる*E. dispar*との鑑別診断が重要である。すでに指摘されて久しいが、これまでの形態分類では上記の2種の区別は不可能で、抗体産生の有無、原虫のDNA鑑定、その他の方法による鑑別が求められている。一方、寄生虫症一般に当てはまることであるが、診断用の検査キットがほとんどの場合に検査用試薬として未承認で、入手困難なことが多い。地研等でのフォローアップや行政対応に際しては、検査・診断に係る技術的整備が求められるところである。

いうまでも無く、赤痢アメーバ症は侵襲性のある原虫(アメーバ)に起因する感染症であることから患者では抗体価の上昇が期待される。両

者の区別(赤痢アメーバ症の診断)は抗体価の変化を指標とすれば容易である。本研究事業ではELISA法による抗体測定方法の標準化を目指した。また、市販の診断用キットが入手しやすい状況にないことから、赤痢アメーバの抗原の提供体制を整備し、あわせて他の原虫症の検査への応用範囲を広めるべくクリプトスポリジウム症の血清診断への有用性につき検討した。

### B. & C. 研究方法と研究結果

#### 1. 原虫の培養

抗原材料用として大量培養に適した*Entamoeba histolytica*/HK-9株(ATCC 30015)を用いた。原虫は10mlのTYI-S培地(ATCC1141)を用いて13ml容ホウ酸ガラス製ネジ付試験管(イワキ TST-SCR16-100)で密栓状態にし35℃で準嫌氣的培養を行った。

TYI-S 培地の組成ならびに調整法を以下に示す。

#### TYI-S-33/ATCC1141 Medium

TYI Broth	87 ml
Vitamin Mixture 18	3 ml
Heat- inactivated Bovine Serum (56°C for 3 hrs)	10 ml

#### TYI Broth

TYI Base Stock	77 ml
10x Glucose Buffer Stock	10 ml
L-Cysteine·HCl (Sigma C7880)	0.1 g
Ascorbic acid	0.02 g

使用前に 1N NaOH 添加により pH を 6.8 に調整し、フィルターろ過により滅菌する。

#### TYI Base Stock

Trypticase peptone (BBL 211922)	20.0 g
Yeast extract (BBL 211929)	10.0 g
NaCl	2.0 g
Ferric Ammonium Citrate (Sigma 5879)	22.8 mg
Distilled Water	770.0 ml

フィルター滅菌後、77ml ずつ 100ml のピンに密栓保存し、-20°C に保存する。

#### 10x Glucose Buffer Stock

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.6 g
Glucose	10.0 g
Distilled Water	100.0 ml

フィルター滅菌し、4°C に保存する。

## 2. 標準抗原の調整

TYI-S 培地を用いて集密単層状態 (confluent) になった虫体を材料として、以下の手順で PBS 抽出を行い、可溶性タンパク画分を抗原として調整した。なお、必要に応じて一部の細胞は遠心洗浄後に -80°C で凍結保存した。

- 1) TYI-S 培地を除去した後、氷冷した PBS を試験管に 8ml 程度加え、試験管を氷水中に置き栄養体を剥離する。
- 2) 試験管を転倒混和して栄養体を浮遊させ、1,000g、5 分間、4°C で遠心する。
- 3) 上清を除去し、冷却した PBS を 5ml 加え再浮遊後、10ml スピッツ管に移し、4°C で 1,000 g、5 分間、遠心する。
- 4) 3) の操作を繰り返す。

- 5) 上清を除去し、アメーバ栄養体をペレットのまま -80°C に凍結保存する。
- 6) 氷冷しながら凍結保存試料を溶解し、10<sup>7</sup> ~ 10<sup>8</sup> 個/ml となるように PBS で濃度調整する。
- 7) ガラス小試験管に上記細胞浮遊液を 1.0ml とり、冷水中で超音波破碎処理 (30 秒間、5 回) を行う。
- 8) 5ml サンプルチューブに細胞破碎液を移し、4°C で 10,000g、5 分間、遠心する。
- 9) 上清を回収し、タンパク質濃度を測定後、濃度を 1.5mg/ml に調整、粗抽出抗原液とする。
- 10) 分注して -80°C で凍結保管する。

なお本抗原の入手希望を受けた場合、必要量の抗原液を提供している。

## 3. ELISA による IgG 抗体測定

以下に ELISA の手順を示す。

- 1) 粗抽出抗原液を炭酸緩衝液で 5 μg 蛋白質/ml に調整し、その 100 μl をマイクロプレートの各ウェルに入れ一昼夜、4°C で吸着させる。
- 2) 洗浄液 250 μl で 3 回洗浄する。
- 3) ブロッキング溶液<sup>注1</sup> 250 μl を加え、2 時間、37°C にて保温する。
- 4) 洗浄液 250 μl で 3 回洗浄する。
- 5) ブロッキング溶液で 200 倍希釈した被検血清を 100 μl ずつ各ウェルに加える。
- 6) 1 時間、37°C で保温する (1 次反応)。
- 7) 洗浄液 250 μl で 5 回洗浄する。
- 8) ブロッキング溶液で 8,000 倍希釈した抗ヒト IgG-horseradish peroxidase 標識抗体 (ICN 社 #55221) を 100 μl ずつ各ウェルに加える。
- 9) 1 時間、37°C で保温する (2 次反応)。
- 10) 洗浄液 250 μl で 5 回洗浄する。
- 11) 酵素基質液 100 μl を各ウェルに加え、37°C にて発色させる。
- 12) 415nm で、試料の吸光度を測定する。

注1 ブロッキング剤にはカゼインタンパクを成分とする溶液を使用した。なお、このブロッキング剤は抗体希釈用にも使用した。

#### 4. ELISA 用試薬溶液類の調整

##### 1) 抗原吸着用炭酸緩衝液

1M NaHCO <sub>3</sub>	43.3 ml
1M Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	6.7 ml
Distilled water	950 ml

##### 2) PBS

0.15M NaHPO <sub>4</sub>	1,500 ml
0.15M KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	500 ml
NaCl	68 g
Distilled water	8,000 ml

##### 3) 洗浄液 (PBS/T)

Tween 20 (Sigma)	5 ml
PBS	

##### 4) ブロッキング・血清希釈液

Blocking Reagent (Roche)	5 g
PBS	1,000ml

##### 5) 発色用基質液 (5 プレート分)

0.1M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	25 ml
0.1M Citric acid	25 ml
ABTS (Sigma)	15 mg
30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	5 $\mu$ l

#### 5. ELISA の有効性に関する検討

赤痢アメーバ患者血清 3 試料および一般健康者血清 90 試料の抗体価分布を ELISA で比較した (図-1)。患者血清は試料数が少なく、ばらつきがあったが、OD 値は 0.5~0.8 の間に分布した。これに対し、一般健康者血清の抗体価はほとんどが OD<0.1 であり、平均 OD=0.035、標準偏差 0.023、平均+2×標準偏差は 0.097、平均+3×標準偏差では 0.104 と計算された。

#### 6. 血清疫学調査

本年度、赤痢アメーバ集団感染関連ならびに散発事例合わせて 5 件の報告を受け、各事例につき ELISA による血清疫学的調査を行った。

事例 1. 東北地方の X 県で施設内入所者の中にアメーバ性大腸炎患者が確認されたことから、入所者ならびに職員に対して糞便検査ならびに HA 試験 (凝集試験) が行われ、入所者の約半数が抗体陽性と診断された。HA 試験に用いられた血清を当該 ELISA 法で抗体価測定を行った結果を図-2 に示した。

結果をまとめると、

- 1) HA の結果から陰性と考えられる施設職員 60 名の抗体価は平均 OD=0.032、平均+2×標準偏差は 0.075 であり、ほぼ上記一般健康者と同様の抗体価分布を示した。カット・オフ値 OD=0.1 とした場合、一名を除く全員 (98.3%) が抗体陰性と判断された。
- 2) 入所者のうち HA 陰性であった 39 名については、職員とほぼ同様の抗体価分布を示した。すなわち、36 名 (92.3%) は ELISA においても抗体陰性と判断された。なお、抗体価の最大値は OD=0.206 であった。
- 3) これに対し、HA 陽性と判断された入所者 37 名では ELISA の OD 値が幅広い分布を示し、最低で OD=0.052、最大で 0.946 であった。この集団では 1 名を除き 36 名が抗体陽性と判断された。なお、この集団は全員がシスト陽性ではなく、陰性者も含まれていた。
- 4) 一部で行われた PCR の結果との関係では、少なくとも PCR によって赤痢アメーバと同定されたシスト排出者は全員が ELISA 法による抗体陽性であった。

事例 2. 九州地方 Y 県で地域的な下痢患者が多発し、検便でアメーバ様の構造物が検出されたことから、ELISA による抗体測定を行った。この例では対象となった全員が陰性反応を示し、血清学的には赤痢アメーバ症が否定された。

事例 3. 中部地方の Z 県で、血便症状から潰瘍性大腸炎の診断を受け、加療。その約半年後に検便で赤痢アメーバの栄養体が確認された。蛍光抗体法で 100 倍以上の抗体価を示した。患者は長年にわたり住居付近の湧水を飲用していたことから、家族や関係者間での感染が疑われ、患者と周辺者の合わせて 4 名につき ELISA 法で抗体価測定を行った。なお、家族内に高齢者 (80 歳台) がいたため、陰性対照として 80 歳台の一般健康人を含めた。ELISA の結果、患者の抗体価は OD=0.692 と高く、抗体陽性であったが、他の 3 名は陰性と判断された。

事例 4. 九州地域の XX 県で、持続性的下痢症状を呈する患者の内視鏡検査で組織から赤痢アメーバが検出された。同患者の検便ではアメーバは確認できなかった (検便前に metromidazole 投与)。ELISA 法による抗体検査では、3 回の検査でいずれも OD=0.7~0.9 とい

う高い抗体価が示され、血清学的に赤痢アメーバ抗体陽性と判断された。

事例5.九州地域のXX県での単発例で、下痢、血便等の消火器症状は無く、腸管ポリープと炎症が認められた患者において組織中にアメーバが検出された。投薬（metromidazole）により症状の回復を見た。この例では、蛍光抗体価が200倍を示し、血清学的にも赤痢アメーバ症が確認されていた。本症例にELISA法を適用したところ、2回の検査でOD=1.1~1.3という高い抗体価が示され、赤痢アメーバ抗体が確認された。

#### D. & E. 考察と結論

ELISA法による抗体陽性率はアメーバ性肝膿瘍で98%、アメーバ赤痢で85~95%、アメーバ性大腸炎で80~90%と報告されている。今回の事例からも、アメーバ性大腸炎に対するELISAの診断能力の高さが示された。抗体価の変動幅、カット・オフ値についてはさらに例数を増やして検討している。一部の検査成績は管轄の地研に抗原を送付し、マニュアルに従って施行された検査結果であった。今後とも、地研との協力関係を円滑にし、赤痢アメーバ症全般における診断成績を蓄積し、ELISA法の精度管理と標準化を図ることが重要と考えられる。なお、今後は散発事例の診断に有用とされるDot-ELISA法についても、併せて検討していく。

ちなみに、寄生虫・原虫症の分野においては、クリプトスポリジウムやサイクロスポラ、マラリアなど疾病が多様化する一方で、地方や大学、その他の地域医療機関に専門家が極めて少ない現状にあり、国主導の研究と、成果の地方への普及・啓発が必要である。当該研究の成果は検査法マニュアル等に逐次反映させ、情報提供してきた。当該研究成果は飲料水汚染や輸入感染症対策の一環として反映・機能していることを付記する。

#### F. 健康危険情報

特になし

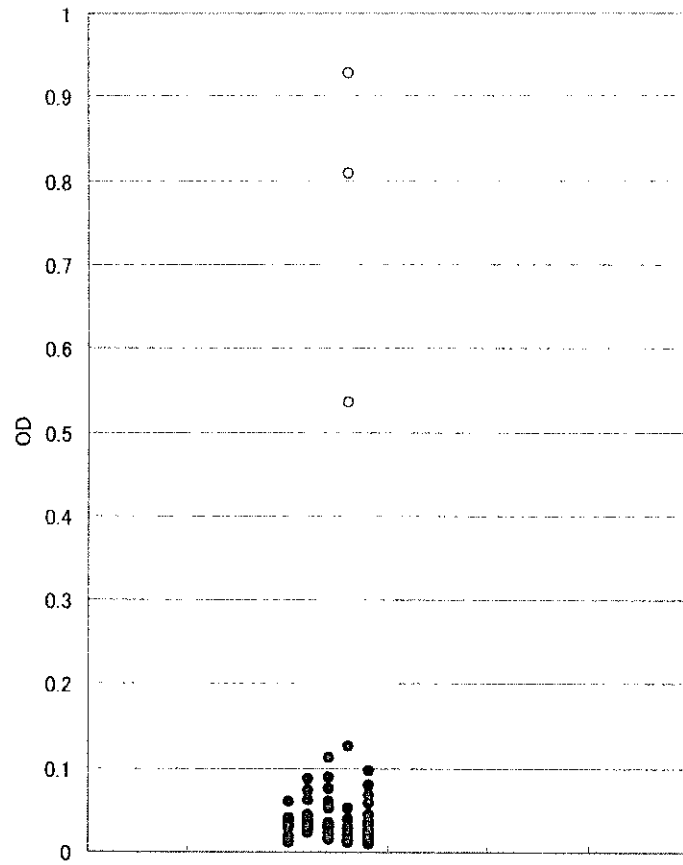
#### G. 研究発表

特になし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

図-1 赤痢アメーバ症患者血清ならびに一般健常人血清の  
ELISA による抗体価測定結果







## 17. 細菌感染症・炭疽の診断法の標準化に関する研究

分担研究者 牧野 壮一 (帯広畜産大学畜産学部助教授)

**研究要旨** 一世紀以上前に世界で初めて分離・同定された病原体、炭疽菌は世界で恐れられてきた伝染病、炭疽の原因菌である。現在新興・再興感染症がクローズアップされている中で、炭疽菌は容易に大量の芽胞菌体として精製できるので、紛争が起こると常に生物兵器のための病原菌として恐れられてきた。即ち、人為的に起こりうる伝染病と言える。同時に、海外では動物やヒトでの自然発生も毎年数多く報告されている。この原因は炭疽菌芽胞による汚染常在地の存在による。わが国でもかつては発生が多く見られたので、炭疽常在地が多くあると考えられるので、人為的原因による発生も考慮して、炭疽に対する警戒および防疫上の対処は常に必要である。しかし、我が国は炭疽に対しては発生が無いことから無防備であるといえる。炭疽菌の迅速検出法は確立されつつあるが、今回のアメリカで起きた炭疽菌テロ騒動に引き続いて我が国で起きた『白い粉騒動』では、炭疽菌に対する検査体制が国内で整備されていない現状が明らかにされた。炭疽菌自体の認知度の低さもさることながら、国内における迅速かつ確実、そして画一的な検査法が確立していないことが大きな原因であった。そこで、昨年度までの実績を現在までの炭疽菌の検査に関わってきた基礎研究を応用して、動物実験による検査過程を再現し、それらの有用性について検討した。

### A. 研究目的

炭疽菌により起こる炭疽は、草食動物を中心とした家畜伝染病であるが、人を含めた他の動物にも重篤な症状を起こす人畜共通伝染病である。炭疽菌は、乾燥状態で容易に芽胞菌となり、一度土壌が炭疽菌で汚染されると、芽胞菌として感染力を保持しながら数十年生残し、炭疽常在地となる。

ヒトの疾病は、創傷感染による皮膚炭疽、汚染動物肉の経口摂取による腸炭疽、および芽胞を吸引する肺炭疽があるが、肺炭疽が最も死亡率が高く、適切な治療を行わないと 99% 死亡する。実際、感染後 24 時間以内に大量の抗生物質を投与すれば死亡率は極端に低下するが、発症してしまうと急激に重篤な状態に陥ってしまう。すなわち、血流中に炭疽菌が入り込んでしまうと抗生物質もほとんど効力がなくなる。昨年度アメリカで起きた炭疽菌によるテロでは、実際に炭疽菌の微粒化し、乾燥させた芽胞菌体を用いられ、貴重な生命を奪った。乾燥粉

末は『白い粉』として公開され、それ以後国内外を問わず悪戯や過剰な反応などで地方衛生研究所は、その検査で多忙となったことは記憶に新しい。検査の間、建物の立ち入り禁止や業務の停止など一般生活に多大に支障を与え、迅速な検査法の必要性が強く望まれていた。しかし、検査体制は世界的にも全く整備されてはならず、国内でも厚生労働省による研修会等で方法を指導してはきたが、国内で提供可能な迅速検査法の確立が急務であった。現在『白い粉』騒動は沈静化してはいるが、またいつ勃発するか予測できない現状で、国内で供給可能な炭疽菌の迅速検出法の確立は重要であると言える。そこで、昨年度まで本研究では、我々の保有している技術や知識を駆使して、迅速検出法を開発し、その応用や実用性を評価してきた。しかし、発症過程が急性であること、初期症状が特異性が無いこと、などが理由で、検出法が炭疽の症状の経過とどのように関連しているのか全く把握できていない。そこで、患者の発生を想定した実験は安全上の理由から困難であるので、動物実験によりヒトの発症過程を想定し

た感染実験を実施し、マウスの発症過程に応じた検出法の有用性を検討した。

## B. 研究方法

### 1. 菌株

炭疽菌パスツー2 菌株（莢膜産生、毒素産生株）の一夜培養液を芽胞形成培地に常法に従い接種し、37℃にて緩やかに振盪培養を行い作製した。顕微鏡観察によりほぼ100%の芽胞形成を確認後、滅菌生理食塩水で2回洗浄後、80℃30分間加熱処理し、更に2回滅菌生理食塩水で洗浄した。最終芽胞数を $10^7$ 個/mlになるよう懸濁し、実験に使用した。

### 2. 感染実験

作製した芽胞の毒力を判定するために、マウス（ddY、雌 6 週齢）を用い、腹腔内接種による50%致死率（LD<sub>50</sub>）を算出した。この10 LD<sub>50</sub>をマウス100匹に接種し時間経過および採材を行い検出系の検証を行った。これらの感染実験は実験従事者および周辺への安全性を考慮し、感染マウスはP3レベルの動物飼育施設内で飼育し、マウスからの採材はクラス IIB の安全キャビネット内で、陰圧の専用実験室内で実施した。採材したサンプルとして、生きているマウスからランダムに10匹を選び血液を採取した。

### 3. 実施した炭疽菌の検出法

- ① 直接分離: サンプルは普通寒天平板およびポリミキシンB添加血液寒天平板に適当量塗抹し、炭疽菌の分離を試みた。
- ② 直接鏡検: サンプルの一部は直接スライドガラスに塗抹してグラム染色を実施し炭疽菌の確認を行った。
- ③ アスコリーテスト: 家畜伝染病予防法に記載されている試験方法であるアスコリー試験を、死亡したマウスから脾臓を採材し実施した。簡単に方法を記載すると、サンプルの10倍乳剤を生理食塩水で作製し、沸騰水中で20分間加熱し、

室温でゆっくり温度を下げた後、上清を直径2ミリ程度の試験管内に分注したアスコリー反应用抗血清に重層し、境界面での白濁線形成を確認し、陽性とした。

- ④ ガンマーフェージ溶菌試験: 分離菌株について実施した。
- ⑤ 蛍光抗体法: 外国で一般的に用いられている方法として実施した。
- ⑥ PCR法による迅速診断法: 昨年度に報告したキットを利用した。
- ⑦ 血清中の酵素活性の測定: 昨年度の炭疽テロの際の患者の血清中生化学性状のデータから、必要と考えられる酵素活性をベットラポシステムにより実施した。実施はアルカリフォスファターゼ（ALKP）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、そしてガンマーグルタミルトランスフェラーゼ（GGT）である。
- ⑧ 抗体価の測定: 各ステージで血清を分離し、炭疽菌体に対する抗体価の上昇をELISAでスクリーニングし、有意に高い血清について炭疽菌全蛋白に対してウエスタンブロットング法を実施した。

### 4. サンプリング

マウスは1週間観察した。死亡マウスの場合、脾臓および血液、腹腔液を採材し、上記検出法を実施した。死亡マウスにおいては新鮮な血液が採集できないため、酵素活性試験は省いた。生きているマウスからはランダムに10匹を選び、血液を採集し上記検出法を実施した。しかしアスコリー反応は生きたマウスには実施できないので省いた。

### 5. PCR用サンプル調整

PCRに適したサンプル調整は参考文献に記載されている。

## C. 研究結果

### ① マウス感染実験による LD<sub>50</sub> 算出

図 1 に示したような各芽胞数について 5 匹づつ 1 週間観察した。その結果 100 芽胞数接種でおよそ 50% の死亡率と考えられた。

### ② 炭疽菌感染マウスにおける各検出法の応用 (表 1)

- (a) マウスの発症経過を観察した結果、24 時間後には毛並みの悪いマウスは 1 匹もいなかった。マウスの死亡も観察されなかった。さらに血液を用いた培養、鏡検、抗体価の上昇、酵素活性の変化などは観察できなかった。しかしながら、PCR 法で 24 時間後のサンプルから目的とする DNA 断片が検出された。
- (b) 36 時間後には、相当数のマウスに毛並みの悪さや、腹腔膨満が観察された (生残マウスの約 60%)。更に 5 匹のマウスが死亡した。これらの臓器からは炭疽菌が全ての試験で確認できた。生残マウスにおける酵素活性は僅かの上昇が観察されたが、有意に高いものではなかった。生残マウスにおける血液サンプルからの PCR は全て陽性であった。しかし、抗体価の上昇は有意に高くはなっていないかった。
- (c) 48 時間以降の死亡マウスは表に示した通りである。全てのマウスからは炭疽菌が上記試験で確認された。
- (d) 48 時間以降の生残マウスでは 96 時間までの全てのマウスから炭疽菌の検出が確認された。しかし、144 時間後には多くの生残マウスから炭疽菌の検出はできなかった。しかし、PCR 法では陽性となっていた。144 時間後に生き残っていたマウスは全て腹部膨満はなく、元気であった。また酵素活性は上昇が確認され、肝臓のマーカー酵素の変化が確認できた。しかし、酵素活性についてはエラーがたびたび起き、はっきりとした結果

は出せなかった。これは繰り返しても同じであった。

## D. 考察

今回はマウスを用いて、ヒトが炭疽菌に感染した場合、感染後どの位から我々の確立した検出法は有効なのかを検証する目的で実験を実施した。その結果、LD<sub>50</sub> が約 100 芽胞個であり、これは使用菌株の毒力が強毒株に比べ弱いことが原因と考えられた。そこで、その 10 倍菌数を接種してマウスの経過を観察すると、24 時間までは外見は正常であり、炭疽菌の培養も出来なかった。しかし、24 時間後には一部の血液サンプルから PCR により炭疽菌特異的 DNA 断片が検出された。さらに、マウスで症状を呈するものは全て菌分離から全ての検査で陽性になっていた。更に、抗体価の測定では、重症化が顕著になって初めて有意な抗体価の上昇が観察され、早期診断法にはほとんど有効ではないと考えられた。図 2 には今回のテロに際してアメリカ CDC で推奨されている炭疽を疑う際の検査方法であるが、今回の結果から PCR 法の有用性が強く示唆できる結果となり、PCR の実施は炭疽菌の培養や染色に先駆けて実施すべきではないかと考えられた。特に、今回使用したリアルタイム PCR は、40 分程度で陽性になることから推薦できるものであった。

マウスのモデル系は一度に多くの数を使用できる長所はあるが、血液量が乏しく十分な検査が実施できない点があり、今後中動物を使用した系を用いて行う必要がある。また、感染経路を今回は腹腔ない接種で行ったが、腸や経皮そして吸引などの経路も想定した実験を行う必要があるが、安全面で全て網羅できないであろう。

## E. 結論

マウスをヒトのモデルとして、炭疽の感染実験の経過と、炭疽菌検出を比較した。その結果、明らかな症状を呈しているときには現行の検査法は全て有効であったが、発症以前では PCR 以外検出はできなかった。このことは、炭疽菌に感染した場合、少なくとも発症以前に PCR で検出することが望まれると結論できた。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Makino, S-I., Watarai, M., Cheun, H. I., and Uchida, I. 2002. Role of the lower molecular capsule, which was released from the cell surface of *Bacillus anthracis*, on the pathogenesis. *J. Infect. Dis* 186(2):227-33.
2. Sou-ichi Makino and Hyeng-il Cheun. 2003. Application of the real-time PCR for the detection of airborne microbial pathogens in reference to the anthrax spores. *J. Microbiol. Meth.* In press.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

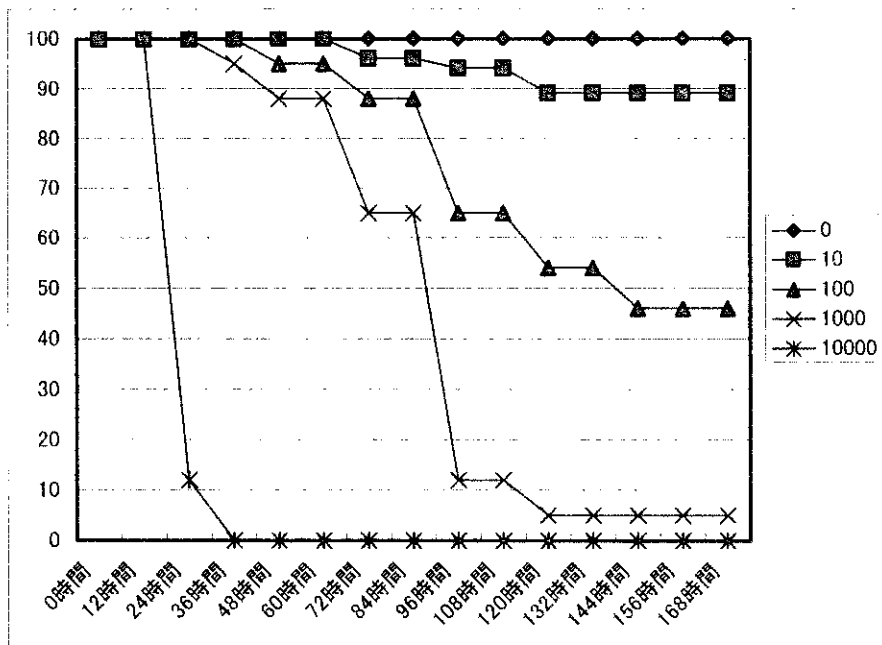


図 1. マウス感染実験

表 1. 炭疽菌の感染マウスにおける各種検出法

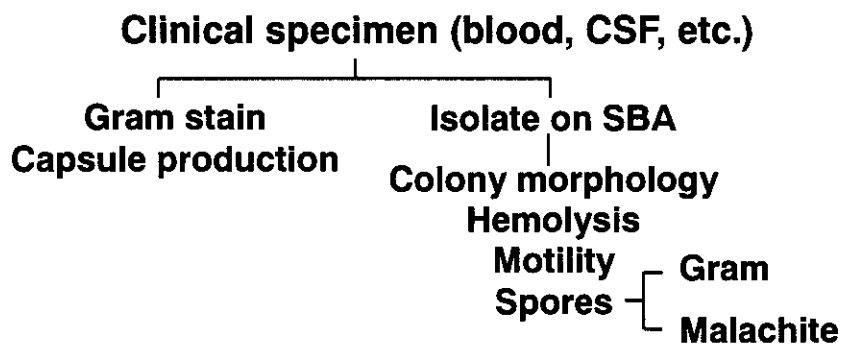
	感染後の日数										
	0	12	24	36	48	72	96	120	144	168	
直接培養	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	
顕微鏡観察	-	-	-	+/-	+	+	+	+	-	-	
アスコリー試験	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	
ファージ試験	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	
蛍光染色	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	
PCR	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
酵素活性	-	-	-	-	+/-	+/-	+/-	ND	+	ND	
抗体価	-	-	-	-	+/-	+	+	+	+	+	

アスコリー反応は死亡したマウスについてのみ実施した。

ND: バックグラウンドが高くてエラーメッセージが出たため検出不可能。

図 2. アメリカにおける炭疽の疑いのある場合の検出方法

## ***B. anthracis:* Presumptive Identification**







### III. 研究成果の刊行に関する一覧表



著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	刊名	ページ	出版年
Ikebe T, Murai N, Endo M, Okuno R, Murayama S, Saitoh K, Yamai S, Suzuki R, Isobe J, Tanaka D, Katsukawa C, Tamaru A, Katayama A, Fujinaga Y, Hoashi K, Ishikawa J, Watanabe H, The working group for group A streptococci in Japan	Changing prevalent T serotypes and <i>emm</i> genotypes of <i>Streptococcus pyogenes</i> isolates from streptococcal toxic shock-like syndrome (TSLs) patients in Japan.	Epidemiol Infect		In press	
Kawahara M, Isogai E, Rikihisa Y, Takahashi M, Misumi H, Tsuji M, Shibata S, Suto C	<i>Candidatus</i> Neoehrlichia rattus', A New Genotypic Cluster of Bacteria within the Family Anaplasmataceae found in Wild Rats and Ticks.	Int J Systematic Evolutionary Microbiol		In press	
Li TC, Takeda N, Kato K, Nilsson J, Xing L, Haag L, Cheng RH, Miyamura T	Characterization of self-assembled virus-like particles of human polyomavirus BK generated by recombinant baculoviruses.	Virology		In press	
Takahashi M, Miwa T, Yamada K, Sato Y, Ikawa K, Matsumoto Y, Sano T, Takasaki T, Nerome R, Ito M, Kurane I	Detection of dengue virus-infected patients among passengers at the quarantine station of the New Tokyo international airport.	Jpn J Infect Dis		In press	2003
Makino SI, Cheun HI	Application of the real-time PCR for the detection of airborne microbial pathogens in reference to the anthrax spores.	J Microbiol Meth		In press	2003
Sheikh S, Sugitani M, Kinukawa N, Moriyama M, Arikawa Y, Komiyama K, Li TC, Takeda N, Ishaque SM, Hasan M, Suzuki K	Hepatitis E virus infection in fulminant hepatitis patients and apparently healthy population in Bangladesh.	Am J Trop Med Hyg	66	721-724	2002
Kitamoto T, Mohri S, Ironside JW, Miyoshi I, Tanaka T, Kitamoto N, Itohara S, Kasai N, Katsuki M, Higuchi J, Muramoto T, Shin RW	Follicular dendritic cell of the knock-in mouse provides a new bioassay for human prion.	Biochem Biophys Res Commun	294	280-286	2002
Inoue T, Inoue Y, Hayashi K, Shimomura Y, Fujisawa Y, Aono A, Tano Y	Effect of herpes simplex virus-1 gD or gD-IL-2 DNA vaccine on herpetic keratitis.	Comea	21	S79-S85	2002
Yamada K, Takasaki T, Nawa M, Nerome R, Arai Y, Morimoto K, Kurane I	The features of imported dengue fever cases confirmed at National Institute of Infectious Diseases, Japan, during 2001.	Dengue Bulletin	26	In press	2002
Ikebe T, Wada A, Kato H, Inagaki Y, Sugama K, Suzuki R, Tanaka D, Tamura A, Fujinaga Y, Abe Y, Shimizu Y, Watanabe H, The working group for group A streptococci in Japan	Dissemination of the phage-associated novel superantigen gene <i>speL</i> in recent invasive and noninvasive <i>Streptococcus pyogenes</i> M3/T3 isolates in Japan.	Infect Immun	70	3227-3233	2002

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	刊名	ページ	出版年
Noda M, Yoshida T, Sakaguchi T, Ikeda Y, Yamaoka K, Ogino T	Molecular and epidemiological analyses of human adenovirus type 7 strains isolated from the 1995 nationwide outbreak in Japan.	J Clin Microbiol	40	140-145	2002
Makino SI, Watarai M, Cheun HI, Uchida I	Role of the lower molecular capsule, which was released from the cell surface of Bacillus anthracis, on the pathogenesis.	J Infect Dis	186	227-233	2002
Nagata N, Shimizu H, Ami Y, Tano Y, Harashima A, Suzaki Y, Sato Y, Miyamura T, Sata T, Iwasaki T	Pyramidal and extrapyramidal involvement in experimental infection of cynomolgus monkeys with enterovirus 71.	J Med Virol	67	207-216	2002
Takasaki T, Nawa M, Yamada K, Takeda A, Kurane I	Evaluation of dengue IgM detection tests using sera from patients with autoimmune diseases.	J Virol Meth	102	61-66	2002
Yamamoto A, Nakayama M, Kurosawa Y, Sugo K, Karasawa H, Ogawa T, Takasaki T, Tashiro M, Kurane I	Development of a particle agglutination assay system for detecting Japanese encephalitis virus-specific human IgM, using hydroxyapatite-coated nylon beads.	J Virol Meth	104	195-201	2002
Okabe N	Infectious Disease Surveillance Designated by the Infectious Disease Control Law, and the Situation of Emerging/Re-emerging Infectious Diseases in Japan.	Jap J Med	41	61-62	2002
Ohkawa T, Yoshinaga M, Ikarimoto N, Miyahara H, Miyata K, Doi Y, Shibata N, Arakawa Y	Characterization of <i>Klebsiella pneumoniae</i> and <i>Escherichia coli</i> strains that produce CTX-M-2 type broad spectrum $\beta$ -lactamase isolated from a child with leukemia.	Pediatr Infect Dis J	21	260	2002
Niikura M, Takamura S, Kim G, Kawai S, Saijo M, Morikawa S, Kurane I, Li TC, Takeda N, Yasutomi Y	Chimeric recombinant hepatitis E virus-like particles as an oral vaccine vehicle presenting foreign epitopes.	Virology	293	273-280	2002
岡部信彦	感染症週報 (IDWR) からみる日本の感染症の動向	現代医療	35	42-52	2003
岡部信彦	新世紀の感染症学 グローバル時代の感染症 一本邦の現状	日本臨床	61 増刊号 2	9-15	2003
田中 毅、岡部信彦	感染症情報の入手方法	JIM	12	325-327	2002
岡部信彦	特集：感染対策の理論と実際 新興・再興感染症とその対策	現代医療	34	2624-2629	2002
岡部信彦	特集「輸入感染症」輸入感染症と感染症法におけるサーベイランス	小児科診療	65	2025-2031	2002
松井珠乃、大山卓昭、岡部信彦、小野友道	熊本県におけるツツガ虫病の診断・報告の現況 ー感染症サーベイランスの重要性ー	日本皮膚科学会雑誌	112	1253-1255	2002
岡部信彦	日本の感染症サーベイランス	日本皮膚科学会雑誌	112	1683-1685	2002