

つつが虫病と日本紅斑熱の早期診断における かさぶたを用いたPCR法の有用性

PCR法

検査材料

血液 100 μ l (パフィーコート、血糖バイオマツジャー)
刺口 (創皮) 1~2mm

DNA抽出 Dneasy Blood & Tissue Kits, QIAGEN

PCR (古屋らの方法)

日本紅斑熱: 17kDa antigen gene
(R1/R2で2度, R5/R10で2度)

つつが虫病: 54kDa antigen gene
(34/55' → 10/11')



検査・診断研究

マダニの迅速同定法の検討 (特に幼若期の形態的鑑別法)

マダニの種の同定は容易ではなく、とくに幼若虫期は難度が高い。

⇒同定のポイントを整理した一書表と、写真画像による迅速同定法を検討し、配布した。



予防・治療研究

リケッチア症の重症化とサイトカイン産生制御について

重症化の予測には何を指
標にすればいいか?

臨床的重症度のスコア化
臨床例の前方性的研究

②症例の検討

急性期、サイトカイン量の測定

炎症性サイトカイン(TNF- α)

$p < 0.001$

動物モデルの開発

患者情報と検査成績による総合的解析

③救命のための治療選択

マロキサクリン(つつが虫病)

ニューキノロンの併用(日本紅斑熱)

ステロイド併用(ショック症例)

④多施設共同臨床研究

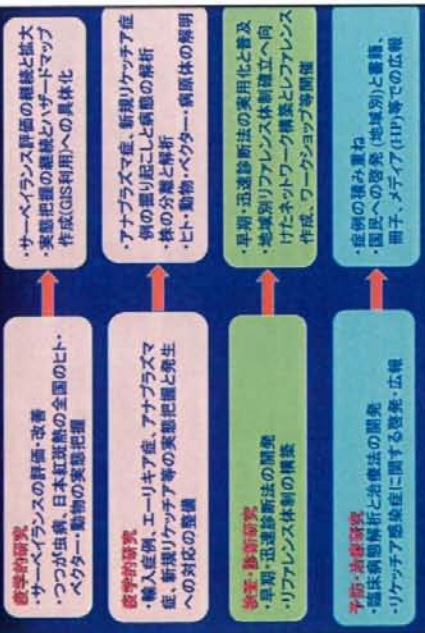
動物モデルの開発

患者情報と検査成績による総合的解析

重症化予測のための検討(3年間のまとめ)

- 重症度の評価可能なつつが虫病および日本紅斑熱を対象とし、経時的な血中サイトカイン測定を実施した。(和歌山県、三重県、島根県)
- 重症度スコア (*J Clin Microbiol* 1997) を用いた。
- 急性期と回復期の血清でサイトカイン(TNF- α , IL-1, IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ , IL-8, IL- β)濃度を測定した。今回の検討では、重症度スコアの平均値はつつが虫病1.16、日本紅斑熱1.81と、後者が高かった($p=0.038$)。
- 血中サイトカイン濃度はIL- β を除いて急性期には上昇し、回復期には低下した。両疾患においてTNF- α の低下は有意であった。スコア値により重症群と軽症群に層別化した急性期の血中TNF- α 濃度は、つつが虫病、日本紅斑熱、それぞれ重症群が有意に高値を示した。

これまでの成果のまとめと今後の課題



ダニ媒介性細菌感染症に対する総合的対策



平成20年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：効果的な感染症サーベイランスの評価並びに改良に関する研究

課題番号：H18-新興一般-015

研究代表者：谷口清州

I. 研究の意義

- (1) 平成18年度より開発された新しい発生動向調査システムについて評価を行う必要性
- (2) 新しいシステムにおいて報告されたデータについての科学的解析が十分行われていない
- (3) 国の発生動向調査のデータを他の情報源や医療機関において評価する必要性
- (4) 公衆衛生の現場からの意見を集約する必要性
- (5) 現状の発生動向調査システムが感染症対策に有効に機能しているかの評価
- (6) エビデンスに基づいたサーベイランス戦略の樹立とシステムの改善の必要性

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 実際の発生動向調査のプレイヤーからの意見を集約する
- (2) 発生動向調査のデータを解析し、対策に必要なデータが収集されているかを考察する
- (3) 病原体サーベイランスや個々の疾患のサーベイランスの実際の対策への貢献を評価する
- (4) 対策に効果的な解析方法を開発する
- (5) 他のサーベイランスネットワークや病院でのデータと比較検討する
- (6) 感染症法に基づく発生動向調査システムの改善のための基礎資料と提言を作成する

III. 3年間の研究成果

・研究代表者

- (1) 現状の発生動向調査システムとの連続性をもった新型インフルエンザサーベイランスを提言
- (2) 班全体の成果により厚生労働省担当部局に発生動向調査システム改善のための意見を具申
- (3) 班員の研究成果を総括して現状の発生動向調査システムの問題点を議論してまとめた

・研究分担者(多田有希)

- (1) 感染症法のもとで実施されている感染症発生動向調査システムでは、情報量の増加と確実性向上、セントラルデータベース化による報告の適時性向上、対象疾患の変更等に際してのソフト面で柔軟性向上などが認められた
- (2) サブシステム間(特に患者情報と病原体情報)の情報共有化・一体化についての改良が今後の課題である

・研究分担者(神谷信行)

- (1) 感染症発生動向調査(定点報告)を定点医療機関が直接入力できる仕組みを提供することにより、情報収集の迅速化と関係機関における情報の早期共有化を図り、保健所負荷の軽減、転記ミスの軽減につながる。

・研究分担者(小野塚大介)

(1) 米国では複数のデータベースを統合した GIS の利用、検査室とのオンラインにより危機管理がされている

・研究分担者(倉田毅)

(1) 病原体情報の感染症サーベイランスシステムへの入力率が低いのは入力が煩雑な事が原因であった

(2) 現状のインフルエンザ病原体サーベイランスでは、地域によるウイルス亜型の違いを把握できない

・研究分担者(大前利市)

(1) 発生動向調査情報がどのように保健所によって活用されているかの実態把握と評価を行ったところ、保健所によりかなりの差異が認められ、具体的に必要な情報の共有内容を決定した

・研究分担者(永井正規)

(1) 麻疹と風疹の全数把握対象疾患への変更を提案し、他の疾患の警報基準値の変更を提言

(2) 都道府県警報において、発生方法(2007 年度に事務連絡)およびシステムへの導入方法を提案した

・研究分担者(山本英二)

(1) オリジナル版 EpiInfo の 3.5.1(2008/08/13)版への更新に伴い日本語版 EpiInfo の更新を行った。

・研究分担者(鈴木宏)

(1) GIS を使用してアマンタジンとタミフル耐性株発生と伝播状況を明らかにした

(2) 気候状況とインフルエンザウイルスの伝播状況を明らかにした

・研究分担者(島田智恵)

(1) 沖縄における夏季のインフルエンザ患者発生についての疫学調査を行い基礎データをまとめた

・研究分担者(堀野敦子)

(1) マイコプラズマの病原体サーベイランスの評価を行い、分離効率のよい培地と輸送条件を決定した。

・研究分担者(藤本嗣人)

(1) ウイルス採取効率は、フロックスワブが通常の綿棒より平均 9.5 倍多くアデノウイルスを採取できることが分かった

・研究分担者(中瀬克己)

(1) 性感染症定点の設定に関して 2006 年から男女の罹患の比較も可能となったが、充分活かしていない

(2) HIV 報告で今までの診断地情報では都市部で患者数が過大に報告されていることが明らかとなった

(3) HIV 報告の推定感染地に都道府県別情報と診断契機の情報があれば、感染防止対策の基本情報が得られる

・研究分担者(安井良則)

(1) 麻疹流行に関して、教育現場が危機感に比して、具体的な対策についての認識が低いことが明らかとなった

(2) 新型インフルエンザについて、教育現場で情報が不足しており、対策に結びついていないことが明らか

・研究分担者(中野貴司)

(1) インフルエンザ患者の小児科定点報告数と地域病院小児科入院数と人口はほぼ似通い、推計できた

(2) 現状インフルエンザ患児は、通常は予後良好な症状を主訴に入院する者が多い

・研究分担者(池松秀之)

(1) 発生動向調査で使用されているインフルエンザの報告基準の特異度は高いが、感度は 70%であり発生数を低く見積もる可能性があり、感度を上げるために、抗原検出キットの利用が考えられる

・研究分担者(西藤なるを)

- (1) インターネットを利用した医療機関からのインフルエンザ検出報告は、迅速かつ実用的であり、他の感染症の検出についても、同様の運営が可能であることも実証された

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 実際のシステム改善に伴う技術的支援
- (2) システムの評価から発見された現状の発生動向調査システム全体の問題点を解決するための新たなサーベイランス戦略論
- (3) 新型インフルエンザ対策に伴うシステムの調整とパンデミック時の発生動向調査の運用方針
- (4) 新型インフルエンザ発生時の情報共有体制の確立

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 感染症法に基づく発生動向調査システムの改善のための提言と実際の改善
- (2) 感染症法に基づく発生動向調査の5年後の見直しに対する提言
- (3) 新型インフルエンザ発生時のサーベイランス計画への資料

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) Taniguchi K, Hashimoto S, Kawado M, Murakami Y, Izumida M, Ohta A, Tada Y, Shigematsu M, Yasui Y, Nagai M. Overview of infectious disease surveillance system in Japan, 1999-2005. J Epidemiol 17(suppl)3-13, 2007. 他6編の原著論文
- (2) Saito R, Suzuki Y, Li D, Zaraket H, Sato I, Masaki H, Kawashima T, Hibi S, Sano Y, Shobugawa Y, Oguma T and Suzuki H. Increased Incidence of Adamantane-Resistant Influenza A(H1N1)andA(H3N2) Viruses During the 2006-2007 Influenza Season in Japan. JID 197:630-633, 2008.他3編の原著論文
- (3) Fujimoto T, Hamamoto I, Taniguchi K, Chikahira M, Okabe N. Molecular epidemiology of adenovirus type 3 detected from 1994 to 2006 in Hyogo Prefecture, Japan. Jpn J Infect Dis. 2008; 61: 143-145.他2編の原著論文
- (4) 西藤なるを. ML インフルエンザ流行前線情報データベースの紹介. 日本医師会雑誌 2008年3月 Vol.136 No.12 p2439-2443. 他5編の原著論文
- (5) 五島典子, 中野貴司, 長尾みづほ, 庵原俊昭. インフルエンザ罹患時の異常言動に関する臨床的検討. 小児感染免疫 18巻4号 P371-376 2006年.他6編の原著論文

VII. III (3年間の研究成果)の概要図等



○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

鹿児島市立病院小児科、静岡県立こども病院臨床病理科、三重大学医学部小児科学教室、Noguchi Memorial Institute for Medical Research, University of Ghana、国立療養所三重病院小児科、国立感染症研究所、その他

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

武 弘道(鹿児島市立病院小児科部長)、櫻井 実(三重大学医学部小児科学教室教授)、Fancis K.Nkrumah (Director, NMIMR, University of Ghana, Ghana.)、神谷 斉(国立三重病院長)、Keiji Fukuda (Chief, Epidemiology division, Influenza branch, NCID, CDC, US)、Michael J. Ryan (World Health Organization, CDS/CSR)、その他

・主な研究課題

小児感染症の臨床研究、白血病/神経芽細胞種の DNA 量と細胞周期、小児疾患の組織病理学、慢性下痢症と免疫能、ワクチン副作用としてのゼラチンアレルギーの研究、効果的なサーベイランス手法、インフルエンザ疫学、バイオテロ対策、国際保健規則、パンデミックインフルエンザ対策、その他

・これまでの研究実績

-論文

(1) K. Taniguchi, M. Yoshida, T. Sunagawa, Y. Tada, N. Okabe. Imported infectious diseases and surveillance in Japan. *Travel Medicine and Infectious Disease* (2008) 6, 349-354

(2) Taniguchi K, Hashimoto S, Kawado M, Murakami Y, Izumida M, Ohta A, Tada Y, Shigematsu M, Yasui Y, Nagai M. Overview of infectious disease surveillance system in Japan, 1999-2005. *J Epidemiol* 17(suppl)3-13, 2007.

(3) K. Taniguchi, T. Rikimaru, JE Yartey, P. Akpedonu, MA Armar-Klemesu, FK Nkrumah, H. Kamiya, K. Kishi, DA Armar. Immunological background in children with persistent diarrhea in Ghana. *Pediatrics International* 1999;41:162-7.

(4) K. Taniguchi, T. Fijisawa, T. Ihara, H. Kamiya. Gelatin-induced T-cell activation in children with non-anaphylactic reactions to vaccines containing gelatin. *J Allerg Clin Immunol*. 1998;102:1028-32. その他

-政策提言(寄与した指針又はガイドライン等)

(1) 新型インフルエンザガイドライン(厚生労働省新型インフルエンザ対策専門家会議委員として)

(2) SARS 臨床対応/公衆衛生対応ガイドライン(専門家会議メンバーとして)

(3) 発生動向調査システム開発事業評価委員会の提言(委員会委員長として)

(4) 感染症法に基づく発生動向調査実施要領(研究班の主任研究者として、一専門家として)

(5) WHO pandemic surveillance guideline (Informal consultation member として)

(6) WPRO event-based surveillance guideline (Informal consultation member として)

(7) Strengthening national capacities for epidemic preparedness and response in support to national implementation of IHR(2005). (WHO Informal consultation member として) その他

・平成 21 年度新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

国際的な感染症情報の収集、分析、提供機能および我が国の感染症サーベイランスシステムの改善・強化に関する研究(21261601)

日本における感染症サーベイランス

- 1998-1997年 伝染病予防法
 - 迅速な解析と情報提供なし
 - 月報のみ
- 1981年 感染症サーベイランス事業
 - 伝染病予防法形骸化のみに清査目的
 - 定向サーベイランスと病原体サーベイランス
 - 週単位報告伝書と月単位報告伝書
 - 病原体生検検出情報提供なし
 - timelyな解析と情報提供なし
 - 月一回の発生動向調査委員会
- 1997年感染症情報センター設置
 - Webによる諸部局の解析と情報提供開始
- 1999年4月感染症法改正
 - 伝染病予防法とサーベイランス事業合併
 - 電子報告システム設置
 - Web連携による迅速な提示
- 2003年 感染症法改正
 - 2006年 新しく電子サーベイランスシステム
- 2007年 感染症法改正
 - 電子サーベイランスシステム一部改正
 - 改正法に基づく諸部局の連携開始
- 2008年 伝染病の一部改正
 - 電子サーベイランスシステム一部改正
- 2008年 感染症法改正（新型インフルエンザ）
 - システム対応なし

中央情報センターにおける評価

1. データベースの考え方
 購管出血性大腸菌感染症の、届出受理日から届出の報告までに要した時間（日数）を旧システム時と比較し、セントラルデータベース化により、報告の適時性（Timeliness）が図られたかを検討する。

旧データベースシステム：
 2004年第29週～2005年第28週の1年間の「届出日から初回登録日の平均日数」
 =12.8日

新システム（修正報告）：
 ①2007年第1週～第39週の「届出受理日から、保健所が登録するまでの平均日数」
 =2日

②2007年第1週～第39週の届出受理日から、保健所が登録し、地方感染症情報センターが確認（届入報告）するまでの平均日数「3日」
 結果：報告から届への報告までの差は、セントラルデータベース化により大きく改善された。

2. ソフトウェアの操作性・柔軟性
 法改正により対象疾患の追加、類型の変更が行われた際の対応状況から、システムの柔軟性（Flexibility）を検討する。

結果：2007年4月施行の法改正時、2008年1月施行の規制改正時のいずれもシステム上の変更は不要なくスムーズに対応された。

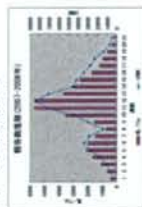


発症から検査までの時間による診断キットの陽性率

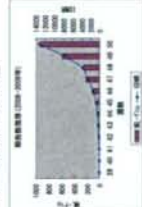
発症から 検査までの時間	H1N1		H3N2		B	
	人数	陽性率	人数	陽性率	人数	陽性率
6時間未満	22	86.4 %	57	75.4 %	42	83.3 %
6時間から12時間未満	16	87.5 %	31	87.1 %	27	85.2 %
12時間から18時間未満	33	97.0 %	58	91.4 %	46	78.3 %
18時間から24時間未満	20	100 %	42	90.5 %	30	90.0 %
24時間から36時間未満	13	92.3 %	38	92.1 %	23	100 %
36時間から48時間未満	6	100 %	20	90.0 %	21	100 %
全体	110	93.6 %	246	87.0 %	189	87.3 %

IDWRとの報告数比較・ML-flu(1)

昨シーズン(2007/11 - 2008/04)

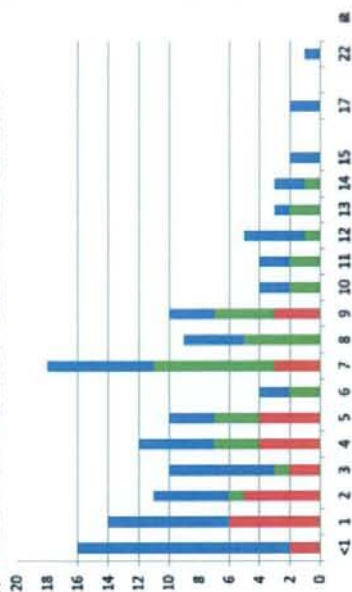


今シーズン(2008/9-12: 第39-50週)



5

人 ■ 熱性けいれん ■ 異常音動 ■ 熱性けいれんと異常音動を認めない

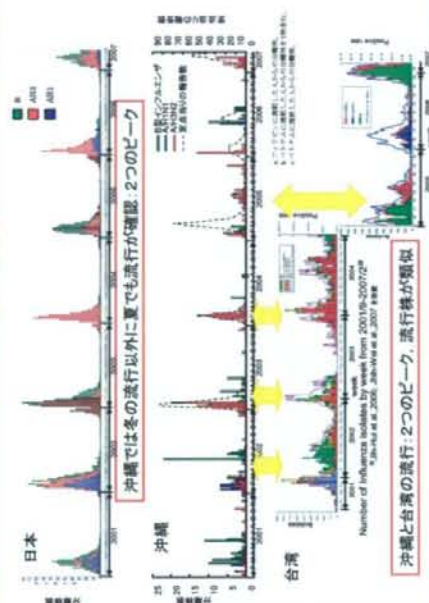


インフルエンザ入院例における異常音動と熱性けいれんの年齢別発現状況 (三重病院, 2006-08年 3シーズン合計)



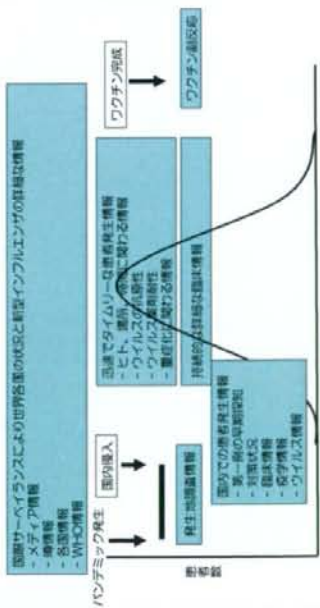
富山県衛生研究所

2001年から2007年までの沖縄、日本、台湾におけるインフルエンザの流行



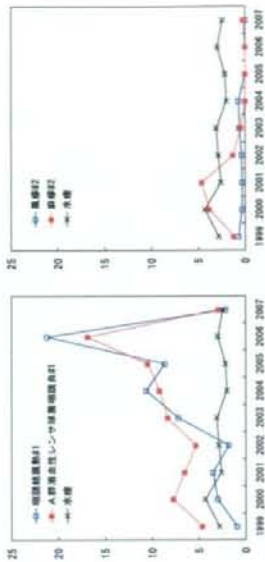
沖縄と台湾の流行: 2つのピーク, 流行株が類似

新型インフルエンザ情報戦略



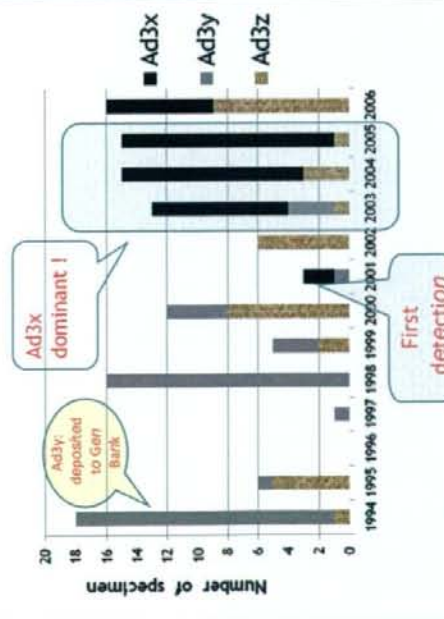
戦略的なサーベイランスの再構築が必要

警報発生週の割合 (1999-2007) —2008年から変更した疾患—



#1: 2007年からの警報の新基準値を適用

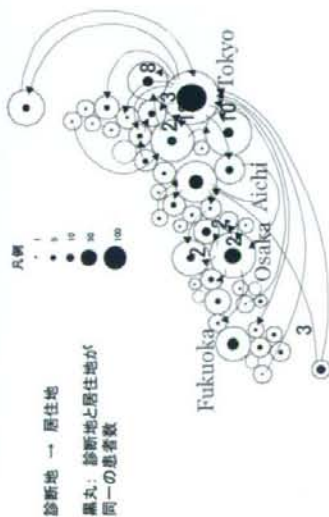
#2: 2008年から全国標準時表疾患へ変更



性感染症サーベイランス

- STIサーベイランスシステムの検討と提言
 - 定数設定については：全数調査結果を活用した解析と提言：三重県、小野寺班との協力、
 - HIVサーベイランスの解析 居住地情報の有用性検討と活用、感染地情報の有用性検討
- STI/HIVサーベイランス結果活用の推進 自治体担当者を含む拡大研究班会議による周知、現状把握
- HIVにおけるパートナー検査の現状把握と評価
- 患者情報以外によるサーベイランス
 - レセプト情報の活用についての検討

HIV患者の診断地と居住地の関係



信頼度の基礎となるもの、病原体の確実な分離と検出
病原細菌の分離培養及び検出法の改良は重要である

最終的な目標

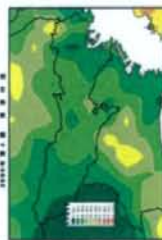
マイコプラズマ肺炎の原因菌である、*M.pneumoniae* の
よりよい病原体分離サンプリングマニュアル、ガイドラインを作成する

問題点

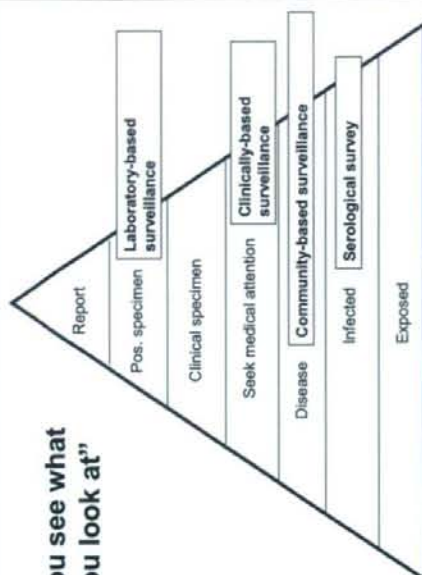
1. 届出基準に遺伝子学的手法が盛り入れられていない
2. 届出基準の項目の一つに病原体の検出があるが、肺炎マイコプラズマは分離操作が煩雑であるため、これを少しでも行いやすい方法に改める

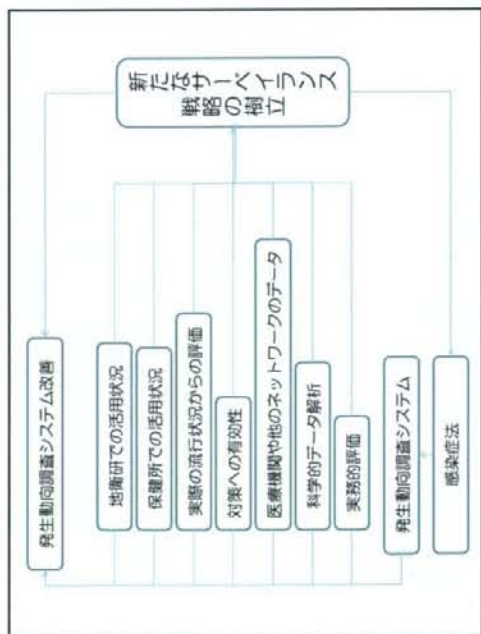
新しいツールの開発と提供

- 定点医療機関からの報告を電子的に保健所で入力するシステム
- WHO/Field Information Management Systemの日本語化とトレーニング
- CDC/EpiInfoの完全日本語化とアップデート対応
- Geographic Information systemを使用した解析ツール
- 地域の機関との情報共有システム
- 新たな罹患採取ツールの検討



“you see what
you look at”





平成20年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究課題番号：H18-新興-一般-016研究代表者：寺嶋 淳**I. 研究の意義**

- (1) グローバル化する食品由来感染症を制御するためには、まず広域における食品由来感染症の発生を監視するシステムを構築してその発生を迅速に把握することが必要である。
- (2) 食品由来感染症の病原体（細菌・ウイルス等）についての遺伝子解析情報等をデータベース化し関係機関で共有することにより、当該病原体による感染症発生の迅速な探知と拡大阻止などの対応が可能となる。
- (3) 正確なデータベースの構築には入力情報の精度管理が不可欠であり、継続的に解析技術を均質化・標準化するとともに、より高精度の解析方法の開発・導入が必要である。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 病原体のDNA解析に基づいた分子系統解析方法により、食品由来感染症における原因病原体の個体識別を行いその解析結果についてデータベース化する。
- (2) データベース化した病原体の解析結果をネットワーク化により共有し、情報を複数の関係機関で迅速かつ正確に解析・利用することで、行政的対応の科学的根拠となることが期待される。
- (3) 細菌及びウイルス等の解析結果に関するネットワークを有効に利用することにより、広域における食品由来感染症の発生を迅速に感知し、汚染源の究明、汚染源の除去（行政的処置を含む）、さらに被害の拡大を未然に防止することが期待される。

III. 3年間の研究成果

・研究代表者(寺嶋淳、他細菌関係分担研究者7名)

(1) 腸管出血性大腸菌等の PFGE 解析結果を感染研においてデータベース化するとともに、地方衛生研究所に対してインターネットを介して PulseNet Japan 上で限定公開した。

(2) 腸管出血性大腸菌 0157 における IS printing system の簡便性と MLVA の高識別能を確認した。

・研究分担者(武田直和 他ウイルス関係分担研究者3名)

(1) ノロウイルス (NoV) 遺伝子群に反応する単クローン抗体、及びこれまでの組換え粒子に対するポリクローン抗体を組み合わせて特異性、感度、迅速性に優れたイムノクロマトの開発に成功した。

(2) NoV の遺伝子型別に用いる基準配列を選定し CaliciWeb 上に公開するとともに、NoV の遺伝子型分類法のガイドラインを示した。

・研究分担者(秋葉道宏 他原虫関係分担研究者4名)

(1) 原因不明の小児下痢症から数%の割合でクリプトスポリジウム及びジアルジアが検出されることから、低年齢層の感染実態は現在の統計よりかなり高いと予測された。

(2) 利根川水系におけるクリプトスポリジウム及びジアルジアの濃度の季節変動とその遺伝子型を明らかにした。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) MLVA等の菌株識別能力の検証と変異株に関する判断基準についての疫学的意義づけを行う。
- (2) 開発・認可されたノロウイルスのイムノクロマトキットを使用し、知見の収集を行う。
- (3) パルスネット及びカリシネットによる情報提供能力を強化、充実させ予防対策に役立てる。

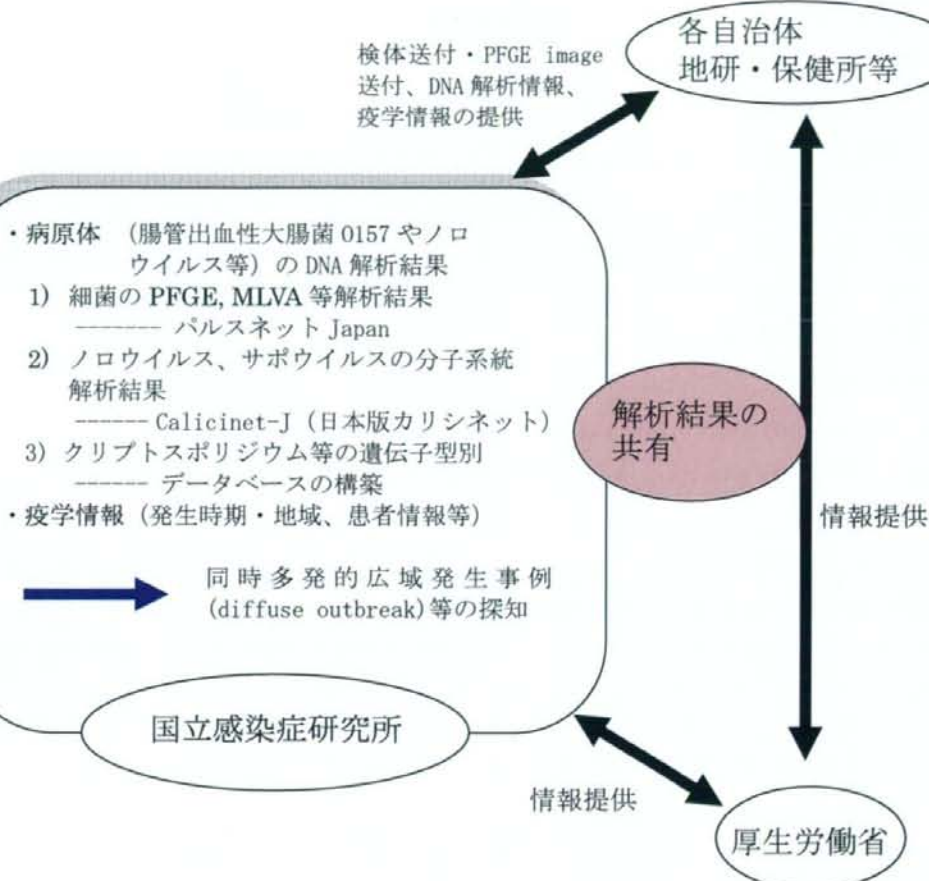
V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 原因菌についてのリアルタイムなデータベース利用により、食品由来感染症の原因菌を識別し当該食品由来感染症の予防・拡大阻止の対策に役立てる可能性がある。
- (2) 食品からのノロウイルス検出法の確立により、迅速なウイルス探知と食品を介するノロウイルス感染拡大防止に役立てる可能性がある。
- (3) 水道水源周辺環境のクリプトスポリジウム等の遺伝子型別分布濃度が明らかになることにより、原虫性疾患の発生による健康リスクへの評価が可能となると期待される。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) Pei Y, Terajima J, Saito Y, Suzuki R, Takai N, Izumiya H, Morita-Ishihara T, Ohnishi M, Miura M, Iyoda S, Mitobe J, Wang B, Watanabe H. Molecular Characterization of Enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 Isolates Dispersed across Japan by Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis. Jpn J Infect Dis. 2008 Jan;61(1):58-64.
- (2) Liang SY, Watanabe H, Terajima J, Li CC, Liao JC, Tung SK, Chiou GS. Multilocus Variable-Number Tandem Repeat Analysis for Molecular Typing of Shigella sonnei. J Clin Microbiol. 2007 Nov;45(11):3574-80.
- (3) Ogura Y, Ooka T, Asadulghani, Terajima J, Nougayrède JP, Kurokawa K, Tashiro K, Tobe T, Nakayama K, Kuhara S, Oswald E, Watanabe H, Hayashi T. Extensive Genomic Diversity and Selective Conservation of Virulence-Determinants in Enterohaemorrhagic Escherichia coli strains of O157 and non-O157 serotypes. Genome Biology. 2007;8(7):R138
- (4) Wu FT, Oka T, Takeda N, Katayama K, Hansman GS, Muo CH, Liang SY, Hung CH, Dah-Shyong Jiang D, Hsin Chang J, Yang JY, Wu HS, Yang CF, 2008. Acute gastroenteritis caused by GI/2 sapovirus, Taiwan, 2007. Emerg Infect Dis 14: 1169-71.
- (5) Shirato H, Ogawa S, Ito H, Sato T, Kameyama A, Narimatsu H, Xiaofan Z, Miyamura T, Wakita T, Ishii K, Takeda N, 2008. Noroviruses distinguish between type 1 and type 2 histo-blood group antigens for binding. J Virol 82: 10756-67.
- (6) Motomura K, Oka T, Yokoyama M, Nakamura H, Mori H, Ode H, Hansman GS, Katayama K, Kanda T, Tanaka T, Takeda N, Sato H, 2008. Identification of monomorphic and divergent haplotypes in the 2006-2007 norovirus GII/4 epidemic population by genomewide tracing of evolutionary history. J Virol 82: 11247-62.
- (7) Toshiro Kuroki, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita, Yumi Une, Hideki Hayashidani, Masaki Kuro-o, Akira Mori, Hajime Moriguchi, Michihisa Toriba, Toru Ishibashi, Takuro Endo (2008): Occurrence of *Cryptosporidium* sp. in snakes in Japan. Parasitology Research 103: 801-805.

VII. III (3年間の研究成果)の概要図等



期待される効果

**感染源の究明と
感染拡大阻止**

○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

1988-1991年 Postdoctoral fellow Syntex Research, Palo Alto, CA., USA

1991年-現在 国立感染症研究所 (旧予防衛生研究所)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

渡邊治雄、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、大西真 (国立感染症研究所)、清水俊一 (北海道立衛生研究所)、甲斐明美 (東京都健康安全研究センター)、松本昌門 (愛知県衛生研究所)、勢戸和子 (大阪府立公衆衛生研究所)、中嶋 洋 (岡山県環境保健センター)、堀川和美 (福岡県保健環境研究所)、大澤朗 (神戸大学)、林哲也 (宮崎大学)、山崎伸二 (大阪府立大学)、Swaminathan B, Ribot EM, Gerner-Smidt P (CDC, USA), Kam KM (Public Health Laboratory Centre, Honk Kong), Park SY, Gaynor MK (Hawaii Department of Health, USA)

・主な研究課題

赤痢菌等の腸内細菌の病原性の解明及び宿主細胞との相互作用に関する研究。

腸管出血性大腸菌 O157 をはじめとする病原性腸内細菌の分子疫学的解析

・これまでの研究実績

- 1) Saitoh T, Iyoda S, Yamamoto S, Lu Y, Shimuta K, Ohnishi M, Terajima J, Watanabe H. Transcription of the ehx enterohemolysin gene is positively regulated by GrlA, a global regulator encoded within the locus of enterocyte effacement in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 2008 Jul;190(14):4822-30.
- 2) Pei Y, Terajima J, Saito Y, Suzuki R, Takai N, Izumiya H, Morita-Ishihara T, Ohnishi M, Miura M, Iyoda S, Mitobe J, Wang B, Watanabe H. Molecular Characterization of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Isolates Dispersed across Japan by Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis. *Jpn J Infect Dis.* 2008 Jan;61(1):58-64.
- 2) Ogura Y, Ooka T, Asadulghani, Terajima J, Nougayrède JP, Kurokawa K, Tashiro K, Tobe T, Nakayama K, Kuhara S, Oswald E, Watanabe H, Hayashi T. Extensive Genomic Diversity and Selective Conservation of Virulence-Determinants in Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* strains of O157 and non-O157 serotypes. *Genome Biology.* 2007;8(7):R138
- 3) Terajima J, Izumiya H, Iyoda S, Mitobe J, Miura M, Watanabe H. Effectiveness of pulsed-field gel electrophoresis for the early detection of diffuse outbreaks due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Japan. *Foodborne Pathogens and Disease.* 2006, 3(1):68-73.
- 4) Miura M, Terajima J, Izumiya H, Mitobe J, Komano T, Watanabe H. OspE2 of *Shigella sonnei* Is Required for the Maintenance of Cell Architecture of Bacterium-Infected Cells. *Infection and Immunity.* 2006, 74(5):2587-95

・平成21年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

申請課題名:

食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究

平成20年度厚生労働科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業

広域における食品由来感染症を迅速に
探知するために必要な情報に関する研究
(H18-新興-一般-016)

研究代表者・寺嶋 淳
(国立感染症研究所 細菌第一部)

- PFGE解析の精度管理と主要菌種のPFGEデータベースの構築
各ブロック内での標準株による精度管理、食中毒事例の解析等
a) 輸入イカを推定原因食品とする広域赤痢事例の解析
(国立感染症研究所 感染症情報センターとの共同研究)
b) ミシンピビアカミガメ由来Salmonella症の把握に向けて
(新興・再興感染症研究事業 動物由来感染症 吉川班との共同研究)
- 感染研サーバーを使用したHP上での解析結果公開システム
(ハルスネット)の構築(ID及びPW管理による地研等への限定公開)。
<http://www0.nih.go.jp/~terajima/opn/index.html>
- EHEC O157 の広域分離株についてMLVA (Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat [VNTR] Analysis)による解析
集団発生事例由来株についてIS printing systemによる解析

研究組織 研究代表者 寺嶋 淳(国立感染症研・細菌第一部) 研究総括

研究分担者 清水俊一(北海道立衛生研究所) 北海道ブロック
甲斐明美(東京都健康安全研究センター) 関東ブロック
松本昌門(愛知県衛生研究所) 東海・北陸ブロック
勢戸和子(大阪府立公衆衛生研究所) 近畿ブロック
中嶋 淳(岡山県健康推進センター) 中国・四国ブロック
堀川和美(福岡県保健環境研究所) 九州ブロック
渡邊治雄(国立感染症研・細菌第一部) 全国

細菌グループ

菌株解析情報の
データベース化
とハルスネットに
よる情報共有

研究分担者 武田重和(国立感染症研・ウイルス第二部)

ウイルスグループ

ノロウイルスの迅速検出法
(イムノクロマト法)の開発・評価
日本版カリシネットシステム
の構築

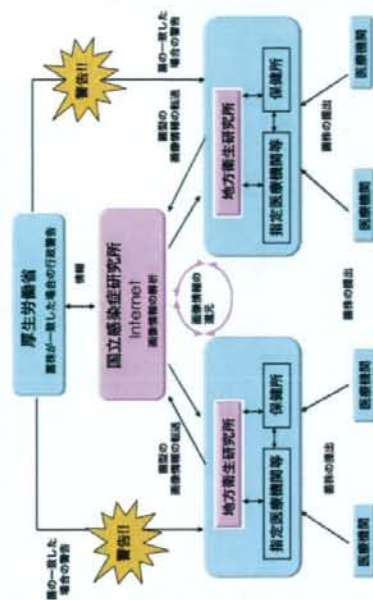
研究分担者 秋葉通宏(国立保健医療科学院)

原虫グループ

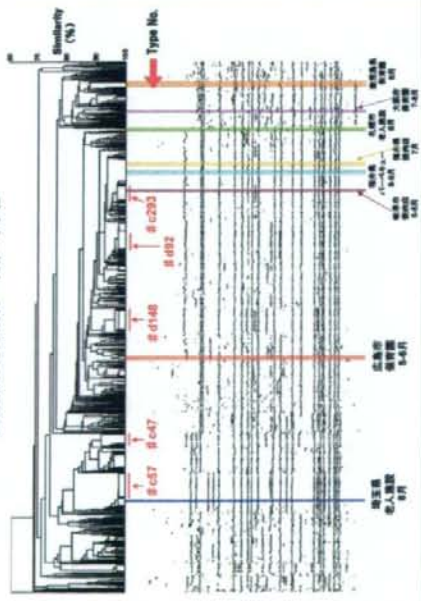
水運水運河川における
クリプトスポリジウムと
ジアルジア汚染の解明
ジアルジア症の国内感染
実態の解明

八木田健司(国立感染症研・畜生動物部)
黒木 淳郎(神奈川県立衛生研究所)
片山 浩之(東京大学大学院工学系研究科)
森田重光(藤布大学環境保健学部)

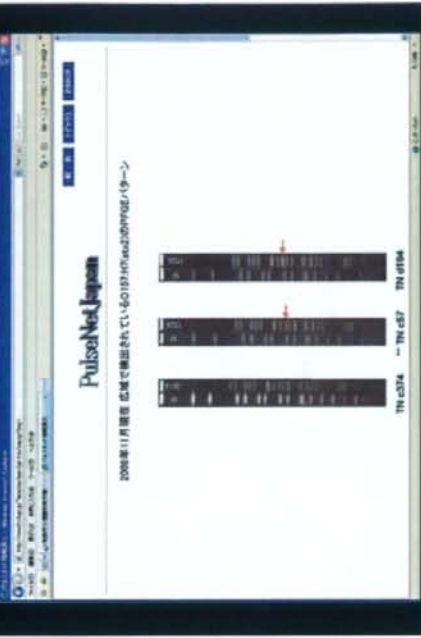
標準ハルスフィールドゲル電気泳動法の情報ネット
(ハルスネット；菌の解析情報の共有)



Dendrogram of EHEC O157:H7 isolates in Japan (1667 entries)
(2000/1/14-12/31) TN = 4.9%



パルスネットによる広域分離株に関する情報提供



2007年に分離されたEHEC O157:H7でPFGEパターンの一致している事例の分布図(III)



2007年に広域から分離された腸管出血性大腸菌O157:H7で、TN c47を示す、119株のMLVAによる解析 (9遺伝子座におけるリピート数の比較)

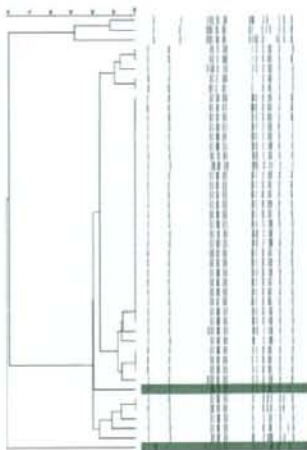
VNTR loci										Subtype		No. of isolate
25	3	34	9	17	19	36	37	10	XbaI	BlnI	MLVA	
5	16	7	15	3	7	5	7	4	c47	07BL001	A	83
5	16	7	15	3	7	5	7	5	c47	07BL001	B	9
5	17	7	15	3	7	5	7	4	c47	07BL001	C	1
5	16	7	15	3	7	5	6	4	c47	07BL001	D	1
5	16	7	16	3	7	5	7	4	c47	07BL001	E SLV1	10
5	16	7	14	3	7	5	7	4	c47	07BL001	F	2
5	16	8	15	3	7	5	7	4	c47	07BL001	G	1
5	16	7	15	3	7	5	6	4	c47	07BL001	H	2
5	16	7	15	3	7	5	7	8	c47	07BL001	I SLV2	2
5	14	7	15	3	7	5	7	4	c47	07BL001	J	3
5	15	7	15	3	7	5	7	5	c47	07BL001	K	3
5	13	9	14	7	4	10	6	21	c47	07BL001	L	6
5	4	7	15	3	7	5	7	4	c47	07BL001	M Others	5
5	16	7	15	3	7	5	7	4	c47	07BL001	N	4
5	16	7	15	3	7	5	7	5	c47	07BL001	O	5

輸入アオリイカの関連が疑われた赤痢菌感染事例

2008年夏、輸入イカが原因と疑われた広域集団事例が発生。
原因菌は赤痢(*S. sonnei*)が主。集団および散发事例で1割7割にまで約計49名の患者が発生。特徴的なPFGEパターンの菌株間の関連性が示された。



Salmonella Montevideo PFGE解析



7血清型のサルモネラ分離株のうち、1血清型(*S. Montevideo*)において人由来43株が**由来2株**の示すPFGEパターンと類似性を示した。

改良型ノロウイルス検出ICキット

RT-PCR法との一致率、感度、特異性はそれぞれ89.2%、81.0%、100%である。小児科外来、老健施設等での急性胃腸炎患者のノロウイルス検出試薬として、ペットサイトでも対応でき、極めて有用である。先ずノロウイルスを診断し、患者、入所者等の治療、さらに感染拡大予防に役立つ。



CaliciWebとカリシウイルスデータベースの構築とWWWへの公開 フロントページ(ホーム)



検索結果(表計算フォーマットで表示、ノート、一括ダウンロード可能)

Accession	Host	Strain	Genotype	GenBank	Accession	Host	Strain	Genotype	GenBank
AF075272	Human	Japan-1998-10-18-1	12.0/98	AF075272	AF075273	Human	Japan-1998-10-18-2	12.0/98	AF075273
AF075274	Human	Japan-1998-10-18-3	12.0/98	AF075274	AF075275	Human	Japan-1998-10-18-4	12.0/98	AF075275
AF075276	Human	Japan-1998-10-18-5	12.0/98	AF075276	AF075277	Human	Japan-1998-10-18-6	12.0/98	AF075277
AF075278	Human	Japan-1998-10-18-7	12.0/98	AF075278	AF075279	Human	Japan-1998-10-18-8	12.0/98	AF075279
AF075280	Human	Japan-1998-10-18-9	12.0/98	AF075280	AF075281	Human	Japan-1998-10-18-10	12.0/98	AF075281

ノロウイルスジェノタイプングの標準化

◆標準株塩基配列、Accession No.、ジェノタイプナンバー一覧表をCallWebにアップロード

◆インタラクティブなジェノタイプングマニューアルの作成、CallWebへのアップロード

◆分子系統解析ツールへのリンク



ノロウイルスジェノタイプ比較表

ノロウイルスの基準分子系統樹

●迅速検査キットを用いた原因不明下痢症検体におけるクリプトスポリジウム、ジアルジアの検出：八木田健司・国立感染症研究所寄生動物病原原因不明の感染性胃腸炎から、数%の割合でクリプトスポリジウム、ジアルジアが検出され、低年齢層の感染発症率が高いことが推察された。

●クリプトスポリジウム検出のためのTaqMan PCR法の比較検討：黒木俊郎・神奈川県衛生研究所微生物部
水試料からのクリプトスポリジウムの検出において、遺伝学的手法を導入することによって、既報の複数のTaqMan PCRシステム(表)の評価を行った。

アプライ	プライマー	標的遺伝子	Crossing point	蛍光強度	
1.	CRIP127/ CRIP128	CRIP292	heat shock protein	25.78	8
2.	Fc-F/Fc-H	Fc-Pro	7	24.33	11
3.	Crypt-193F/ Crypt-37R	Crypt-276	18S rRNA	22.55	6
4.	18S1F/18S1R	KAR	18S rRNA	21.02	8.5
5.	18S1F/18S1R	EM3	18S rRNA	22.09	17

●畜産排水および下水処理によるクリプトスポリジウムおよびジアルジアの除去に関する研究：森田重光・麻布大学生命・環境科学部
畜産排水処理のクリプトスポリジウムおよびジアルジアの除去率は概ね99%以上であった。一方、下水処理では、クリプトスポリジウム33.0~99.6%、ジアルジア98.4~99.9%であった。

●ハイドロキシアバタイトを用いたクリプトスポリジウムとウイルスの同時濃縮法の開発：片山浩之・東京大学工学系研究所
ハイドロキシアバタイト(HAP)と陰電荷膜を組み合わせた装置により、水中のクリプトスポリジウムとウイルスを同時に濃縮する手法を開発した。

●水道水源河川におけるクリプトスポリジウムとジアルジア汚染の実態調査：秋葉道宏・国立保健医療科学院水道工学部
利根川水系におけるクリプトスポリジウムオーシスト及びジアルジアシストの濃度は冬期に高く検出され、その遺伝子型は7トへの感染性を有するものであった。また、シスト濃度は、生活排水処理水の影響が強いと思われる地点において高い傾向を示した。