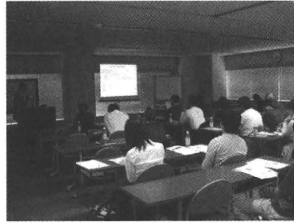


啓 発

「ハンセン病診療ネットワーク構築」のための皮膚科医向けのハンセン病講習会と実習

H21 福岡市
皮膚科医 28名
回復者 6名
H22 東京都
皮膚科医 20名
回復者 4名



内容

- ・ハンセン病講義
- ・回復者による講義
- ・皮膚スミア検査実習
- ・末梢神経の検査実習
- ・標本実習

平成 22 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題： 新型薬剤耐性菌等に関する研究課題番号： H21-新興-一般-008予定期間： H21 年度から H23 年度まで研究代表者： 荒川宜親所属研究機関： 国立感染症研究所所属部局： 細菌第二部職名： 部長年次別研究費(交付決定額)：1 年目 80,000,000 円 2 年目 138,580,000 円**I. 研究の意義**

- (1) 多種多様な新型の多剤耐性菌が相次いで出現しつつあるが、それらの実態が不明
- (2) 新型の多剤耐性菌が獲得している耐性機序が不明、またそれらの有効な検査法が未確立
- (3) 医療機関内での薬剤耐性菌の伝播防止策が徹底できていない医療機関がある

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 新型の薬剤耐性菌が獲得している新しい耐性機構を分子、遺伝子レベルで解明
- (2) 解明した耐性機構に基づいて、それらの検出法、検査法を構築
- (3) 新型の薬剤耐性菌などの発生動向、薬剤耐性の獲得状況などを把握
- (4) 医療現場における薬剤耐性菌の蔓延やそれらによる感染症患者の多発を防止する

III. 2 年間の研究成果

・ 研究代表者 (荒川宜親)

- (1) アシネトバクター属菌で、多剤耐性を示す株は消毒薬にも抵抗性を示す株は多いことを確認
- (2) アミノ配糖体超高度耐性に関与する新型の 16S rRNA メチラーゼの分子機構を確認
- (3) 国内で分離される ESBL 産生菌にはホスホマイシンが有効であることを確認したが、一部には新しいホスホマイシン耐性酵素(FosC2, FosA3 など)を産生する株があることを新たに発見
- (4) 国内の入院患者における、NDM-1 等のカルバペネマーゼ産生株の分離状況を緊急調査

・ 研究分担者(飯沼 由嗣)

- (1) 多剤耐性緑膿菌の遺伝子型別に POT 法を応用し、流行クローンが識別できる可能性を示唆

・ 研究分担者(池 康嘉)

- (1) 国内分離の VRE の遺伝子構造解析により、*vanB* を媒介する新型接合伝達性プラスミドを発見

・ 研究分担者(一山 智)

- (1) 国立大学病院感染対策協議会において、疫学研究等の検討方法・公表を推進する体制を構築

・ 研究分担者(河野 文夫)

- (1) JANIS の集計情報と比較し、国立病院機構の医療機関における感染状況の評価などを実施

・ 研究分担者(北島 博之)

- (1) NICU における感染症を減らすためのガイドラインなどの作成を継続

・ 研究分担者(切替 照雄)

- (1) 多剤耐性アシネトバクター等の実態調査および多剤耐性緑膿菌の迅速検出キットを構築

・ 研究分担者(倉田 毅)

- (1) 地方衛生研究所等での耐性菌検査技術の向上、多剤耐性菌の新規分子疫学的解析方法の開発

・ 研究分担者(黒崎 博雅)

- (1) IND-7 や VIM-2 メタロ-β-ラクタマーゼの X 線結晶構造解析のための JAXA プロジェクトに採択

・ 研究分担者(小西 敏郎)

- (1) 肝切除や膵頭十二指腸切除後の SSI の発生で医療費が 1.9 倍～3 倍に増大することを確認

・ 研究分担者(柴山 恵吾)

- (1) 抗結核薬であるピラジナミドの標的分子と抗菌活性のメカニズムを解明しつつある
 ・研究分担者(鈴木 里和)
- (1) 厚労省院内感染対策サーベイランス事業の改善と安定運用を実現
 ・研究分担者(谷原 真一)
- (1) 傷病名に「敗血症」を含む入院レセプトの一日あたりの幾何平均が 3853 点である等を確認
 ・研究分担者(土手 健太郎)
- (1) JANISICU の運用の実際や感染制御部との関わり合いと、ICU の感染症発生率との関係を調査
 ・研究分担者(長沢 光章)
- (1) JANIS 検査部門参加施設における薬剤耐性菌検査方法とよび精度管理法の把握と分析など
 ・研究分担者(藤本 修平)
- (1) 分離菌の薬剤感受性パターンを活用して、個々の医療機関における院内感染対策を支援する解析ツール(2DCM)-webを開発し、JANIS 事業参加施設に提供可能な状態にした
 ・研究分担者(松本 哲哉)
- (1) 市中感染型 MRSA と全国の MRSA の臨床分離株の細菌学的特徴を比較解析
 ・研究分担者(松本 智成)
- (1) 非結核性抗酸菌(MAC)に於て MIC による薬剤感受性試験の判定域の再評価が必要であることを確認
 ・研究分担者(宮崎 久義)
- (1) JANIS 全入院患者部門に参加する国立病院グループ 58 施設へ調査を行い、回答が得られた 27 施設中、7 施設が MRSA、4 施設が MDRP のアウトブレイクを経験したことを確認
 ・研究分担者(森兼 啓太)
- (1) JANIS アクセスログの解析により、参加施設や一般ユーザの事業に対するニーズを把握
 ・研究分担者(山口 恵三)
- (1) 「アウトブレイクマニュアル」の事例集の総論部分とアシネトバクター属の各論部分を作製
 (2) OXA-型カルバペネマーゼを検出するモノクローナル抗体を作成し、また NDM-1 産生株の検出法の比較評価を実施
 ・研究分担者(山根 一和)
- (1) 厚生労働省 JANIS5 部門の還元情報および公開情報の仕様をホームページ上に公開
 ・研究分担者(山本 友子)
- (1) ケトライド耐性肺炎球菌の耐性要因として *ermB* 遺伝子と *L4* 蛋白遺伝子の変異を確認
 (2) 黄色ブドウ球菌では *ermA*, *ermB*, *ermC* 遺伝子の獲得が高いマクロライド・ケトライド耐性に関与するが、肺炎球菌ではケトライド耐性は発現しないことを確認
 ・研究分担者(和田 昭仁)
- (1) 肺炎球菌の血清型 19F、19A の中で ST1464 と ST320 に対して、PCG と MEPM の MIC が高値を示す

IV. 23 年度の課題

- (1) 研究分担者毎に担当する新型の耐性菌等が獲得した新規の耐性機構を分子、遺伝子レベルで解明する。また、夫々の担当耐性菌の発生動向や、分子疫学的解析を継続する。
- (2) 多剤耐性を獲得した緑膿菌やアシネトバクター等の新型の多剤耐性菌の分子疫学解析手法の確立、評価、および臨床検査への応用、解析手法の普及などをめざす。
- (3) 厚労省院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業の改善や安定運用のための研究を継続する。
- (4) 耐性菌対策や院内感染対策に資するガイドライン等を更新、整備する。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 既存、新型の薬剤耐性菌の検査法の迅速化、正確化等を実現し、厚労省の耐性菌対策、院内感染対策等のための施策の向上を支援する。
- (2) 国内における各種の薬剤耐性菌やそれらによる院内感染の発生状況を把握する厚労省 JANIS 事業の改善と安定運用を科学的、学術的に支援する。
- (3) 医療現場における様々な薬剤耐性菌やそれらによる感染症の低減化を促し、患者予後の改善と医療費の削減に貢献する。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

荒川宜親

1. Wachino J, Shibayama K, Kimura K, Yamane K, Suzuki S, Arakawa Y. RmtC introduces G1405 methylation in 16S rRNA and confers high-level aminoglycoside resistance on Gram-positive microorganisms. *FEMS Microbiol Lett.* **311**(1):56-60, 2010.
2. Kawamura-Sato K, Wachino J, Kondo T, Ito H, Arakawa Y. Correlation between reduced susceptibility to disinfectants and multidrug resistance among clinical isolates of *Acinetobacter* species. *J Antimicrob Chemother.* **65**(9):1975-83, 2010.
3. Wachino J, Yamane K, Suzuki S, Kimura K, Arakawa Y. Prevalence of fosfomycin resistance among CTX-M-producing *Escherichia coli* clinical isolates in Japan and identification of novel plasmid-mediated fosfomycin-modifying enzymes. *Antimicrob Agents Chemother.* **54**(7):3061-4, 2010.
4. Park YJ, Yu JK, Kim SI, Lee K, Arakawa Y. Accumulation of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes, *qepA* and *qnrS1*, in *Enterobacter aerogenes* co-producing RmtB and class A β -lactamase LAP-1. *Ann Clin Lab Sci.* **39**(1):55-9, 2009.
5. Nagano N, Kimura K, Nagano Y, Yakumaru H, Arakawa Y. Molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility recurrently isolated from a sacral decubitus ulcer. *J Antimicrob Chemother.* **64**(6):1326-8, 2009.
6. Kimura K, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Shibata N, Arakawa Y. Practical disk diffusion test for detecting group B streptococcus with reduced penicillin susceptibility. *J Clin Microbiol.* **47**(12):4154-7, 2009.
7. Nagano Y, Nagano N, Wachino J, Ishikawa K, Arakawa Y. Novel Chimeric β -Lactamase CTX-M-64, a Hybrid of CTX-M-15-like and CTX-M-14, Found in *Shigella sonnei* Resistant to Various Oxyimino-Cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**(1):69-74, 2009.
8. 2007 年に作成した「医療機関における院内感染対策マニュアル作成のための手引き (V5.0)」の更新

池 康嘉

1. B Zheng, H. Tomita, T. Inoue and Y. Ike Isolation of VanB-Type Enterococcus faecalis Strain from Nosocomial Infection: First Report of the Isolation and Identification of the Pheromone-Responsive Plasmids pMG2200, Encoding VanB-Type Vancomycin Resistance and a Bac41-Type Bacteriocin, and pMG2201, Encoding Erythromycin Resistance and Cytolysin (Hly/Bac). *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009 **53**(2):735-747
2. Y. Li, H. Tomita, Y. Lv, J. Liu, F. Xue, B. Zheng and Y.Ike Molecular Characterization of *erm*(B)- and *mef*(E)-mediated erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in China and complete DNA sequence of Tn2010. *Journal of Applied Microbiol.* 2010 in Press

北島博之

「NICU 病院感染予防のためのガイドライン (試案) Ver1.1」
 JANIS 研究班 (新生児集中治療室研究班) ホームページ
<http://www.nih.go.jp/niid/bac2/janis/nicu/manual.html> にて公開中

切替照雄

1. Kitao T., Miyoshi-Akiyama T., Shimada K., Tanaka M., Narahara K., Saito N., and Kirikae T. Development of immunochromatographic assay for the rapid detection of AAC(6')-Iae-producing multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**(7):1382-6. 2010.
2. Kitao T., Miyoshi-Akiyama T., and Kirikae T. AAC(6')-Iaf, a novel aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase from multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**(6):2327-34. 2009.

黒崎博雅

1. Yamaguchi, Y., Takashio, N., Wachino, J., Yamagata, Y., Arakawa, Y., Matsuda, K., and Kurosaki, H. Structure of Metallo- β -lactamase IND-7 from a *Chryseobacterium indologenes* Clinical Isolate at 1.65 Å Resolution. *J. Biochem.*, **147**, 905-915 (2010).

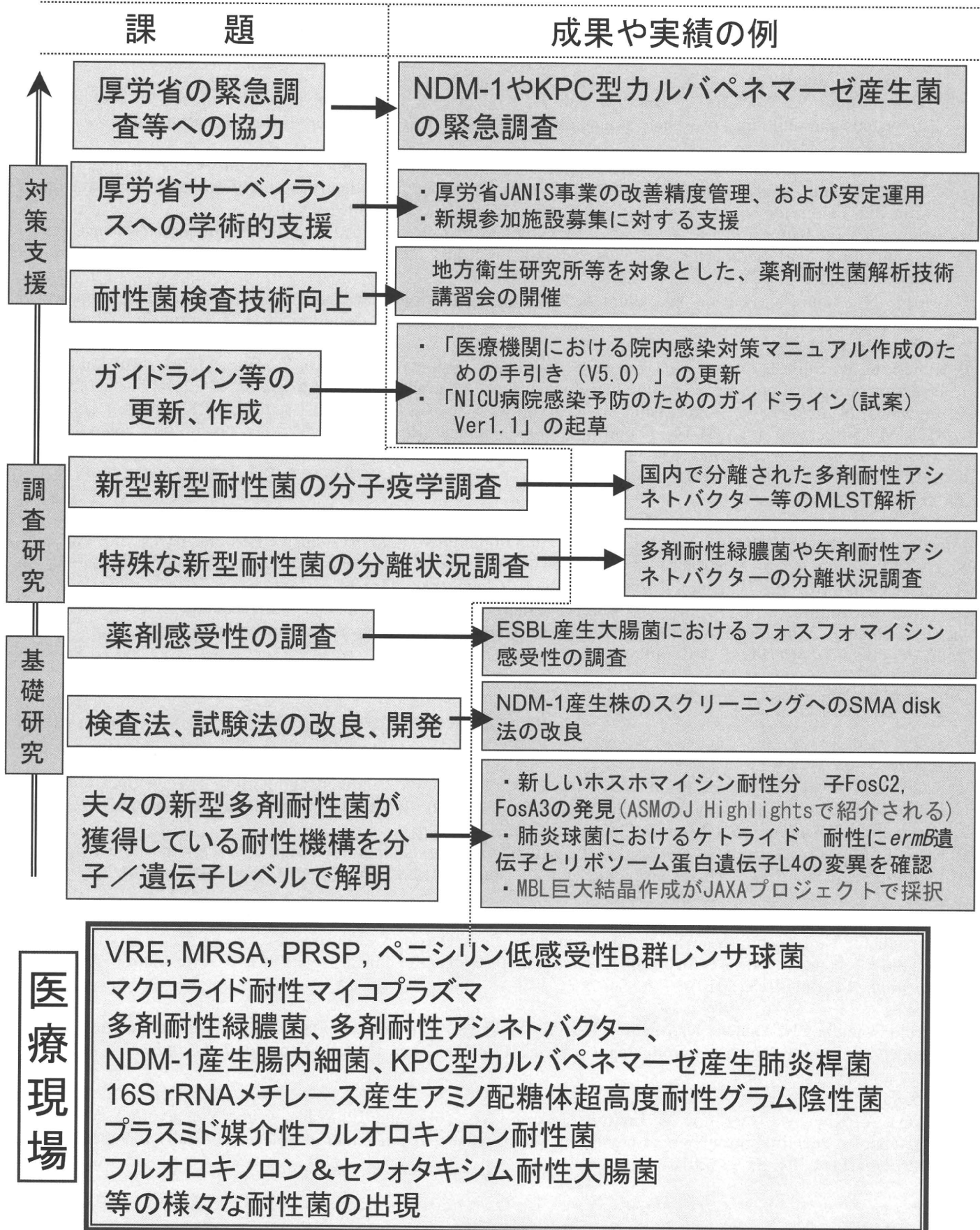
鈴木里和

1. Suzuki S, Shibata N, Yamane K, Wachino J, Ito K, Arakawa Y. Including Ceftazidime. Change in the prevalence of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. *J Antimicrob Chemother.* 2009 Jan;**63**(1):72-9.

山本友子

1. Takaya A., Kitagawa N., Kuroe Y., Endo K., Okazaki M., Yokoyama E., Wada A. and Yamamoto T. Mutational analysis of reduced telithromycin susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolated clinically in Japan. *FEMS Microbiol. Lett.* **307**: 87-93 (2010)

「新型薬剤耐性菌等に関する研究」班



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

1984-1997：名古屋大学医学部細菌学講座

1997-2010：国立予防衛生研究所／国立感染症研究所

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

1. 1984-1997：加藤延雄（名古屋大学医学部細菌学講座教授、同大学医学部長、同大学総長）
2. 1997-：伊藤秀郎（名古屋大学医学部保健学科教授）、川村久美子（名古屋大学医学部保健学科准教授）、池康嘉（群馬大学医学部細菌感染制御部教授）、山口博雅（熊本大学大学院医学薬学研究部、薬品物理化学准教授）

・主な研究課題

1. 肺炎桿菌の病原因子の一つである莢膜多糖体合成に関与する遺伝子領域の解析
2. グラム陰性桿菌における広域セファロsporin、カルバペネム耐性の分子機構の解析
3. 多剤耐性菌が獲得した新しい plasmid 媒介性の薬剤耐性メカニズムに関する研究

・これまでの研究実績

159. Nakamura Y, Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, Otsuka N, Saito R, Tsuruoka J, Katsuta T, Nakajima N, Okada K, Kato T, Arakawa Y. Marked difference between adults and children in *Bordetella pertussis* DNA load in nasopharyngeal swabs. *Clin Microbiol Infect*. 2010 Apr 28. inpress
158. Komiya T, Seto Y, De Zoysa A, Iwaki M, Hatanaka A, Tsunoda A, Arakawa Y, Kozaki S, Takahashi M. Two Japanese *Corynebacterium ulcerans* isolates from the same hospital: ribotype, toxigenicity and serum antitoxin titre. *J Med Microbiol*. 2010 Dec;59(Pt 12):1497-1504.
157. *Wachino J, Shibayama K, Kimura K, Yamane K, Suzuki S, Arakawa Y. RmtC introduces G1405 methylation in 16S rRNA and confers high-level aminoglycoside resistance on Gram-positive microorganisms. FEMS Microbiol Lett. 2010 Oct;311(1):56-60.*
156. Minauchi K, Takahashi S, Sakai T, Kondo M, Shibayama K, Arakawa Y, Mukai M. The nosocomial transmission of *Helicobacter cinaedi* infections in immunocompromised patients. *Intern Med*. 2010;49(16):1733-9.
155. *Kawamura-Sato K, Wachino J, Kondo T, Ito H, Arakawa Y. Correlation between reduced susceptibility to disinfectants and multidrug resistance among clinical isolates of Acinetobacter species. J Antimicrob Chemother. 2010 Sep;65(9):1975-83.*
154. Iwaki M, Komiya T, Yamamoto A, Ishiwa A, Nagata N, Arakawa Y, Takahashi M. Genome organization and pathogenicity of *Corynebacterium diphtheriae* C7(-) and PW8 strains. *Infect Immun*. 2010 Sep;78(9):3791-800.
153. Mori S, Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y. Crystallization and preliminary X-ray analysis of the diadenosine 5',5''-P₁,P₄-tetrakisphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*. 66: 279-81, 2010.
152. Kato H, Kato H, Ito Y, Akahane T, Izumida S, Yokoyama T, Kaji C, Arakawa Y. Typing of *Clostridium difficile* isolates endemic in Japan by sequencing of *slpA* and its application to direct typing. *J Med Microbiol*. 59: 556-62, 2010.
151. Kuroda M, Katano H, Nakajima N, Tobiume M, Aina A, Sekizuka T, Hasegawa H, Tashiro M, Sasaki Y, Arakawa Y, Hata S, Watanabe M, Sata T. Characterization of quasispecies of pandemic 2009 influenza A virus (A/H1N1/2009) by de novo sequencing using a next-generation DNA sequencer. *PLoS One*. 2010 Apr 23;5(4):e10256.
150. *Wachino J, Yamane K, Suzuki S, Kimura K, Arakawa Y. Prevalence of fosfomycin resistance among CTX-M-producing Escherichia coli clinical isolates in Japan and identification of novel plasmid-mediated fosfomycin-modifying enzymes. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Jul;54(7):3061-4.*
149. *Yamaguchi Y, Takashio N, Wachino J, Yamagata Y, Arakawa Y, Matsuda K, Kurosaki H. Structure of metallo-beta-lactamase IND-7 from a Chryseobacterium indologenes clinical isolate at 1.65-A resolution. J Biochem. 2010 Jun;147(6):905-15.*
148. Kamachi K, Fukuda T, Han HJ, Toyozumi-Ajisaka H, Mochida K, Konda T, Horiuchi Y, Arakawa Y; DPT Technical Committee of the Association of Biological Manufacturers of Japan. Genetic verification of *Bordetella pertussis* seed strains used for production of Japanese acellular pertussis vaccines. *Biologicals*. 2010 Mar;38(2):290-3.
147. *Nagano N, Kimura K, Nagano Y, Yakumaru H, Arakawa Y. Molecular characterization of group*

- B streptococci with reduced penicillin susceptibility recurrently isolated from a sacral decubitus ulcer. J Antimicrob Chemother. 2009 Dec;64(6):1326-8.*
146. Kimura K, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Shibata N, Arakawa Y. Practical disk diffusion test for detecting group B streptococcus with reduced penicillin susceptibility. *J Clin Microbiol. 2009 Dec;47(12):4154-7.*
145. Mori S, Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y. Purification and molecular characterization of a novel diadenosine 5',5'''-P(1),P(4)-tetrphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Protein Expr Purif. 2010 Jan;69(1):99-105.*
144. Honma Y, Yoshii Y, Watanabe Y, Aoki N, Komiya T, Iwaki M, Arai H, Arakawa Y, Takahashi M, Kimura H. A case of afebrile pneumonia caused by non-toxicogenic *Corynebacterium diphtheriae*. *Jpn J Infect Dis. 62: 327-9, 2009.*
143. Ohkura T, Yamada K, Okamoto A, Baba H, Ike Y, Arakawa Y, Hasegawa T, Ohta M. Nationwide epidemiological study revealed the dissemination of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying a specific set of virulence-associated genes in Japanese hospitals. *J Med Microbiol. 2009 Oct;58(Pt 10):1329-36.*
142. Yamaguchi Y, Sato G, Yamagata Y, Doi Y, Wachino J, Arakawa Y, Matsuda K, Kurosaki H. Structure of AmpC β -lactamase (AmpCD) from an *Escherichia coli* clinical isolate with a tripeptide deletion (Gly286-Ser287-Asp288) in the H10 helix. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 2009 Jun 1;65(Pt 6):540-3.*
141. Park YJ, Yu JK, Kim SI, Lee K, Arakawa Y. Accumulation of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes, *qepA* and *qnrS1*, in *Enterobacter aerogenes* co-producing *RmtB* and class A β -lactamase LAP-1. *Ann Clin Lab Sci. 2009 Winter;39(1):55-9.*
140. Piao Z, Shibayama K, Mori S, Wachino J, Arakawa Y. A novel insertion sequence, IS1642, of *Mycobacterium avium*, which forms long direct repeats of variable length. *FEMS Microbiol Lett. 2009 Feb;291(2):216-21.*
139. Suzuki S, Shibata N, Yamane K, Wachino J, Ito K, Arakawa Y. Change in the prevalence of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. *J Antimicrob Chemother. 2009 Jan;63(1):72-9.*
138. Nagano Y, Nagano N, Wachino J, Ishikawa K, Arakawa Y. Novel chimeric β -lactamase CTX-M-64, a hybrid of CTX-M-15-like and CTX-M-14 β -lactamases, found in a *Shigella sonnei* strain resistant to various oxyimino-cephalosporins, including ceftazidime. *Antimicrob Agents Chemother. 2009 Jan;53(1):69-74.*
137. Nagano N, Nagano Y, Kimura K, Tamai K, Yanagisawa H, Arakawa Y. Genetic heterogeneity in *pbp* genes among clinically isolated group B Streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother. 2008 Dec;52(12):4258-67.*
136. Takahashi H, Miya S, Kimura B, Yamane K, Arakawa Y, Fujii T. Difference of genotypic and phenotypic characteristics and pathogenicity potential of *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* between clinical and environmental isolates from Japan. *Microb Pathog. 45: 150-8, 2008.*
135. Hironaga M, Yamane K, Inaba M, Haga Y, Arakawa Y. Characterization and antimicrobial susceptibility of *Dysgonomonas capnocytophagoide*s isolated from human blood sample. *Jpn J Infect Dis. 2008 May;61(3):212-3.*
134. Kimura K, Suzuki S, Wachino J, Kurokawa H, Yamane K, Shibata N, Nagano N, Kato H, Shibayama K, Arakawa Y. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother. 2008 Aug;52(8):2890-7.*
133. Liu JH, Deng YT, Zeng ZL, Gao JH, Chen L, Arakawa Y, Chen ZL. Coprevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *QepA*, *Qnr*, and AAC(6')-Ib-cr among 16S rRNA methylase *RmtB*-producing *Escherichia coli* isolates from pigs. *Antimicrob Agents Chemother. 2008 Aug;52(8):2992-3.*
132. Doi Y, Wachino J, Arakawa Y. Nomenclature of plasmid-mediated 16S rRNA methylases responsible for panaminoglycoside resistance. *Antimicrob Agents Chemother. 2008 Jun;52(6):2287-8.*
131. Han HJ, Kamachi K, Okada K, Toyozumi-Ajisaka H, Sasaki Y, Arakawa Y. Antigenic variation in *Bordetella pertussis* isolates recovered from adults and children in Japan. *Vaccine. 2008 Mar 17;26(12):1530-4.*
130. Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Arakawa Y. Plasmid-mediated *qepA* gene among *Escherichia coli* clinical isolates from Japan. *Antimicrob Agents Chemother. 2008 Apr;52(4):1564-6.*
129. Nagano N, Isomine S, Kato H, Sasaki Y, Takahashi M, Sakaida K, Nagano Y, Arakawa Y. Human fulminant gas gangrene caused by *Clostridium chauvoei*. *J Clin Microbiol.*
128. Kirikae T, Mizuguchi Y, Arakawa Y. Investigation of isolation rates of *Pseudomonas aeruginosa* with and without multidrug resistance in medical facilities and clinical laboratories in Japan. *J Antimicrob Chemother. 2008 Mar;61(3):612-5.*
127. Kawamura-Sato K, Wachino J, Kondo T, Ito H, Arakawa Y. Reduction of disinfectant bactericidal activities

- in clinically isolated *Acinetobacter* species in the presence of organic material. J Antimicrob Chemother. 2008 Mar;61(3):568-76.
126. Yamaguchi Y, Jin W, Matsunaga K, Ikemizu S, Yamagata Y, Wachino J, Shibata N, Arakawa Y, Kurosaki H. Crystallographic investigation of the inhibition mode of a VIM-2 metallo- β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* by a mercaptocarboxylate inhibitor. J Med Chem. 50:6647-53, 2007.
125. Wachino J, Shibayama K, Kurokawa H, Kimura K, Yamane K, Suzuki S, Shibata N, Ike Y, Arakawa Y. Novel plasmid-mediated 16S rRNA m1A1408 methyltransferase, NpmA, found in a clinically isolated *Escherichia coli* strain resistant to structurally diverse aminoglycosides. Antimicrob Agents Chemother. 51:4401-9, 2007.
124. Moriguchi N, Itahashi Y, Tabata N, Yamazumi T, Furuta I, Shibata N, Arakawa Y, Miyata H. Outbreak of CTX-M-3-type extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* in a pediatric ward. J. Infect. Chemother. 13:263-6, 2007.
123. Kato H, Ito Y, van den Berg RJ, Kuijper EJ, Arakawa Y. First isolation of *Clostridium difficile* O27 in Japan. Euro Surveill. 12: E070111.3, 2007.
122. Sawabe E, Kato H, Osawa K, Chida T, Tojo N, Arakawa Y, Okamura N. Molecular analysis of *Clostridium difficile* at a university teaching hospital in Japan: a shift in the predominant type over a five-year period. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 26:695-703, 2007.
121. Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Kimura K, Kai K, Ishikawa S, Ozawa Y, Konda T, Arakawa Y. 16S rRNA methylase-producing, gram-negative pathogens, Japan. Emerg Infect Dis. 13:642-6, 2007.
120. Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Konda T, Arakawa Y. New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother. 51:3354-60, 2007.
119. Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y, Saidijam M, Rutherford NG, Henderson PJ. Metabolism of glutamine and glutathione via γ -glutamyltranspeptidase and glutamate transport in *Helicobacter pylori*: possible significance in the pathophysiology of the organism. Mol. Microbiol. 64:396-406, 2007.
118. Ochiai M, Yamamoto A, Kataoka M, Toyozumi H, Arakawa Y, Horiuchi Y. Highly sensitive histamine-sensitization test for residual activity of pertussis toxin in acellular pertussis vaccine. Biologicals 35:259-64, 2007.
117. Shibayama K, Mochida K, Yagi T, Mori S, Arakawa Y, Yamamoto S. Quantification of two variant strains contained in freeze-dried Japanese BCG vaccine preparation by real-time PCR. Biologicals.35:139-43, 2007.
116. Iwaki M, Horiuchi Y, Komiya T, Fukuda T, Arakawa Y, Takahashi M. Toxoid flocculation assay by laser light-scattering. J Immunol Methods. 318:138-46, 2007.
115. Kamachi K, Arakawa Y. Development of safer pertussis DNA vaccine expressing non-toxic C180 polypeptide of pertussis toxin S1 subunit. Vaccine 25:1000-6. 2007.
114. Tanimoto K, Nomura T, Maruyama H, Tomita H, Shibata N, Arakawa Y, Ike Y. First VanD-Type vancomycin-resistant *Enterococcus raffinosus* isolate. Antimicrob Agents Chemother. 2006 Nov;50(11):3966-7.
113. Kurosaki H, Yamaguchi Y, Yasuzawa H, Jin W, Yamagata Y, Arakawa Y. Probing, inhibition, and crystallographic characterization of metallo-beta-lactamase (IMP-1) with fluorescent agents containing dansyl and thiol groups. ChemMedChem. 2006 Sep;1(9):969-72.
112. Kamachi K, Sota M, Tamai Y, Nagata N, Konda T, Inoue T, Top EM, Arakawa Y. Plasmid pBP136 from *Bordetella pertussis* represents an ancestral form of IncP-1 β plasmids without accessory mobile elements. Microbiol. 152:3477-84, 2006.
111. Shibayama K, Nagasawa M, Ando T, Minami M, Wachino J, Suzuki S, Arakawa Y. Usefulness of adult bovine serum for *Helicobacter pylori* culture media. J Clin Microbiol. 44: 4255-7, 2006.
110. Wachino J, Yamane K, Kimura K, Shibata N, Suzuki S, Ike Y, Arakawa Y. Mode of transposition and expression of 16S rRNA methyltransferase gene *rmtC* accompanied by *ISEcpI*. Antimicrob Agents Chemother. 50: 3212-5, 2006.
109. Park YJ, Lee S, Yu JK, Woo GJ, Lee K, Arakawa Y. Co-production of 16S rRNA methylases and extended-spectrum β -lactamases in AmpC-producing *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* and *Serratia marcescens* in Korea. J Antimicrob Chemother. 2006 Oct;58(4):907-8.
108. Iwaki M, Arakawa Y. Transformation of *Acinetobacter* sp. BD413 with DNA from commercially available genetically modified potato and papaya. Lett Appl Microbiol. 2006 Aug;43(2):215-21.
107. Lee H, Yong D, Yum JH, Roh KH, Lee K, Yamane K, Arakawa Y, Chong Y. Dissemination of 16S rRNA methylase-mediated highly amikacin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* in Korea. Diagn Microbiol Infect Dis. 2006 Nov;56(3):305-12.
106. Yamazaki T, Narita M, Sasaki N, Kenri T, Arakawa Y, Sasaki T. Comparison of PCR for sputum samples obtained by induced cough and serological tests for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children. Clin Vaccine Immunol. 2006 Jun;13(6):708-10.

105. Kamachi K, Toyoizumi-Ajisaka H, Toda K, Soeung SC, Sarath S, Nareth Y, Horiuchi Y, Kojima K, Takahashi M, **Arakawa Y**. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. *J Clin Microbiol*. 2006 May;44(5):1899-902.
104. Nagano N, Oana S, Nagano Y, **Arakawa Y**. A severe *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B infection in a child related to a pet turtle, *Trachemys scripta elegans*. *Jpn J Infect Dis*. 2006 Apr;59(2):132-4.
103. Phan LT, Ngo TT, Dang DA, Vu TT, Le NM, Tran QC, Matsuoka M, Kamachi K, Yamazaki T, **Arakawa Y**, Sasaki T. Genetic and phenotypic characterization of *Haemophilus influenzae* type b isolated from children with meningitis and their family members in Vietnam. *Jpn J Infect Dis*. 2006 Apr;59(2):111-6.
102. Shibata N, Kurokawa H, Doi Y, Yagi T, Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Ishikawa S, Kato H, Ozawa Y, Shibayama K, Kai K, Konda T, **Arakawa Y**. PCR classification of CTX-M-type beta-lactamase genes identified in clinically isolated gram-negative bacilli in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Feb;50(2):791-5.
101. Suzuki S, Yamazaki T, Narita M, Okazaki N, Suzuki I, Andoh T, Matsuoka M, Kenri T, **Arakawa Y**, Sasaki T. Clinical evaluation of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Feb;50(2):709-12.
100. Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Shibata N, Kimura K, Ike Y, **Arakawa Y**. Horizontal transfer of *bla_{CMY}*-bearing plasmids among clinical *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates and emergence of cefepime-hydrolyzing CMY-19. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Feb;50(2):534-41.
99. Seki N, Sasaki T, Sawabe K, Sasaki T, Matsuoka M, **Arakawa Y**, Marui E, Kobayashi M. Epidemiological Studies on Bartonella quintana Infections among Homeless People in Tokyo, Japan. *Jpn J Infect Dis*. 2006 Feb;59(1):31-5.
98. Fukuda T, Iwaki M, Hong SH, Oh HJ, Wei Z, Morokuma K, Ohkuma K, Dianliang L, **Arakawa Y**, Takahashi M. Standardization of Regional Reference for Mamushi (*Gloydius blomhoffii*) Antivenom in Japan, Korea, and China. *Jpn J Infect Dis*. 2006 Feb;59(1):20-4.
97. Muta T, Tsuruta N, Seki Y, Ota R, Suzuki S, Shibata N, Kato K, Eto T, Gondo H, **Arakawa Y**. A Nosocomial Outbreak Due to Novel CTX-M-2-Producing Strains of *Citrobacter koseri* in a Hematological Ward. *Jpn J Infect Dis*. 2006 Feb;59(1):69-71.
96. Wachino J, Yamane K, Shibayama K, Kurokawa H, Shibata N, Suzuki S, Doi Y, Kimura K, Ike Y, **Arakawa Y**. Novel plasmid-mediated 16S rRNA methylase, RmtC, found in a proteus mirabilis isolate demonstrating extraordinary high-level resistance against various aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Jan;50(1):178-84.
95. Kato H, Yokoyama T, Kato H, **Arakawa Y**. Rapid and simple method for detecting the toxin B gene of *Clostridium difficile* in stool specimens by loop-mediated isothermal amplification. *J Clin Microbiol*. 2005 Dec;43(12):6108-12.
94. Ohashi M, Yoshikawa T, Akimoto S, Fujita A, Hayakawa S, Takahashi M, **Arakawa Y**, Asano Y. Severe acute tonsillitis caused by *Rothia dentocariosa* in a healthy child. *Pediatr Infect Dis J*. 2005 May;24(5):466-7.
93. Kurosaki H, Yamaguchi Y, Higashi T, Soga K, Matsueda S, Yumoto H, Misumi S, Yamagata Y, **Arakawa Y**, Goto M. Irreversible Inhibition of Metallo- β -lactamase (IMP-1) by 3-(3-Mercaptopropionylsulfanyl)propionic Acid Pentafluorophenyl Ester. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2005 May 13;44(25):3861-3864.
92. Yoshihiro Yamaguchi, Takahiro Kuroki, Hisami Yasuzawa, Toshihiro Higashi, Wanchun Jin, Akiko Kawanami, Yuriko Yamagata, **Yoshichika Arakawa**, Masafumi Goto, and Hiromasa Kurosaki. Probing the Role of Asp-120(81) of Metallo- β -lactamase (IMP-1) by Site-directed Mutagenesis, Kinetic Studies, and X-ray Crystallography. *J. Biol. Chem*. 2005. 280(21):20824-32.
91. Yagi T, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Doi Y, Shibata N, Kato H, Shibayama K, **Arakawa Y**. Practical Methods for Identification of Class C β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* Using Boronic Acid Compounds. *J. Clin. Microbiol*. 2005 Jun;43(6):2551-8.
90. Kunikazu Yamane, Jun-ichi Wachino, Yohei Doi, Hiroshi Kurokawa, and **Yoshichika Arakawa**. Global Spread of Multiple-aminoglycoside-resistance Genes, *Emerg Infect Dis*. 2005 11(6):951-953.
89. Kato H, Yokoyama T, **Arakawa Y**. Typing by sequencing the *slpA* gene of *Clostridium difficile* strains causing multiple outbreaks in Japan. *J Med Microbiol*. 2005 Feb;54(Pt 2):167-71.
88. Fukuda T, Iwaki M, Komiya T, **Arakawa Y**, Takahashi M. Attempt to curtail the observation period of mice in the tetanus vaccine potency tests. *Jpn J Infect Dis*. 2004 Dec;57(6):257-9.
87. Kanai K, Shibayama K, Suzuki S, Wachino J, **Arakawa Y**. Growth Competition of Macrolide-Resistant and -Susceptible *Helicobacter pylori* Strains. *Microbiol Immunol*. 2004;48(12):977-80.
86. Matsuoka M, Narita M, Okazaki N, Ohya H, Yamazaki T, Ouchi K, Suzuki I, Andoh T, Kenri T, Sasaki Y, Horino A, Shintani M, **Arakawa Y**, Sasaki T. Characterization and molecular analysis of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* clinical isolates obtained in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*. 48(12):4624-4630, 2004.
85. Kodama A, Kamachi K, Horiuchi Y, Konda T, **Arakawa Y**. Antigenic divergence suggested by correlation between antigenic variation and pulsed-field gel electrophoresis profiles of *Bordetella pertussis* isolates in Japan. *J.*

- Clin. Microbiol.* 42(12): 5453-5457, 2004.
84. Nishio H, Komatsu M, Shibata N, Shimakawa K, Sueyoshi N, Ura T, Satoh K, Toyokawa M, Nakamura T, Wada Y, Orita T, Kofuku T, Yamasaki K, Sakamoto M, Kinoshita S, Aihara M, Arakawa Y. Metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacilli: laboratory-based surveillance in cooperation with 13 clinical laboratories in the Kinki region of Japan. *J. Clin. Microbiol.* 42(11): 5256-5263, 2004.
83. Nagano N, Nagano Y, Cordevant C, Shibata N, and Arakawa Y. Nosocomial Transmission of CTX-M-2 β -Lactamase-Producing *Acinetobacter baumannii* in a Neurosurgery Ward. *J. Clin. Microbiol.* 42(9): 3978-3984, 2004.
82. Wachino J, Doi Y, Yamane K, Shibata N, Yagi T, Kubota T, Arakawa Y. Molecular characterization of a cephamycin-hydrolyzing and inhibitor-resistant class A β -lactamase, GES-4, possessing a single G170S substitution in the Ω -loop. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004;48(8): 2905-2910.
81. Kamachi K, Arakawa Y. Expression of N-terminal 180-amino-acid of pertussis toxin S1 subunit effectively induce protection against pertussis toxin following DNA-bases immunization. *Infect. Immun.* 2004;72(7): 4293-4296.
80. Doi Y, Wachino J, Ishiguro M, Kurokawa H, Yamane K, Shibata N, Shibayama K, Yokoyama K, Kato H, Yagi T, Arakawa Y. Inhibitor-sensitive AmpC β -lactamase variant produced by an *Escherichia coli* clinical isolate resistant to oxyiminocephalosporins and cephamycins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004;48(7): 2652-2658.
79. Jin W, Arakawa Y, Yasuzawa H, Taki T, Hashiguchi R, Mitsutani K, Shoga A, Yamaguchi Y, Kurosaki H, Shibata N, Ohta M, Goto M. Comparative Study of the Inhibition of Metallo- β -Lactamases (IMP-1 and VIM-2) by Thiol Compounds That Contain a Hydrophobic Group. *Biol Pharm Bull.* 2004 Jul;27(6): 851-856.
78. Doi Y, Wachino J, Yamane K, Shibata N, Yagi T, Shibayama K, Kato H, Arakawa Y. Spread of novel aminoglycoside resistance gene *aac(6')-Iad* among *Acinetobacter* clinical isolates in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004;48(6): 2075-2080.
77. Yamane K, Doi Y, Yokoyama K, Yagi T, Kurokawa H, Shibata N, Shibayama K, Kato H, Arakawa Y. Genetic environments of the *rmtA* gene found in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004;48(6): 2069-2074.
76. Wachino J, Doi Y, Yamane K, Shibata N, Yagi T, Kubota T, Ito H, Arakawa Y. Nosocomial spread of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains producing a novel class A β -lactamase, GES-3, in a neonatal ICU in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004;48(6): 1960-1967.
75. Ochiai M, Kataoka M, Toyozumi H, Yamamoto A, Kamachi K, Arakawa Y, Kurata T, Horiuchi Y. Endotoxin Content in Haemophilus influenzae Type b Vaccine. *Jpn J Infect Dis.* 2004 Apr;57(2):58-59.
74. Arakawa Y, Ike Y, Nagasawa M. Where has vancomycin-heterogeneously resistant *Staphylococcus aureus* gone? *Lancet* 363(9418):1401, 2004.
73. Yamane K, Asato J, Kawade N, Takahashi H, Kimura B, Arakawa Y. Two cases of fatal necrotizing fasciitis caused by *Photobacterium damsela* in Japan. *J. Clin. Microbiol.* 42(3): 1370-1372, 2004.
72. Yamamoto A, Sakai T, Ochiai M, Kamachi K, Kataoka M, Toyozumi H, Arakawa Y, Horiuchi Y. Augmenting effect of antibiotics on endotoxin activity may cause a safety problem. *Microbiol. Immunol.* 48(2):97-102, 2004.
71. Doi Y, Yokoyama K, Yamane K, Wachino J, Shibata N, Yagi T, Shibayama K, Kato H, Arakawa Y. Plasmid-mediated 16S rRNA methylase in *Serratia marcescens* conferring high-level resistance to aminoglycosides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004 Feb; 48(2) 491-496.
70. Shiraki Y, Shibata N, Doi Y, Arakawa Y. *Escherichia coli* producing CTX-M-2 β -lactamase in cattle, Japan. *Emerg. Infect. Dis.* 2004 Jan;10(1):69-75.
69. Yokoyama K, Doi Y, Yamane K, Kurokawa H, Shibata N, Shibayama K, Yagi T, Kato H, Arakawa Y. Acquisition of 16S rRNA methylase gene in *Pseudomonas aeruginosa*. *Lancet.* 2003 Dec 6;362(9399):1888-93.
68. Nagano N, Shibata N, Saitou Y, Nagano Y, Arakawa Y. Nosocomial Outbreak of Infections by *Proteus mirabilis* That Produces Extended-Spectrum CTX-M-2 Type β -Lactamase. *J Clin Microbiol.* 2003 Dec;41(12):5530-6.
67. Shibata N, Doi Y, Yamane K, Yagi T, Kurokawa H, Shibayama K, Kato H, Kai K, Arakawa Y. PCR Typing of Genetic Determinants for Metallo- β -Lactamases and Integrases Carried by Gram-Negative Bacteria Isolated in Japan, with Focus on the Class 3 Integron. *J Clin Microbiol.* 2003 Dec;41(12):5407-13.
66. Iwaki M, Komiya T, Fukuda T, Arakawa Y, Takahashi M. Collaborative study: Standardization of Japanese reference diphtheria and tetanus toxoids, (adsorbed, lot 2), for potency determination of diphtheria-tetanus-acellular pertussis combined vaccine. *Jpn J Infect Dis.* 2003 Aug;56(4):183-5.
65. Kamachi K, Konda T, Arakawa Y. DNA vaccine encoding pertussis toxin S1 subunit induces protection against *Bordetella pertussis* in mice. *Vaccine.* 2003 Nov 7;21(31):4609-15.
64. Komatsu M, Kato H, Aihara M, Shimakawa K, Iwasaki M, Nagasaka Y, Fukuda S, Matsuo S, Arakawa Y, Watanabe M, Iwatani Y. High frequency of antibiotic-associated diarrhea due to toxin A-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile* in a hospital in Japan and risk factors for infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*

2003 Sep;22(9):525-9.

63. Kurokawa H, Shibata N, Doi Y, Shibayama K, Kamachi K, Yagi T, Arakawa Y. A new TEM-derived extended-spectrum β -lactamase (TEM-91) with an R164C substitution at the Ω -loop confers ceftazidime resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Sep;47(9):2981-3.

62. Kurosaki H, Yasuzawa H, Yamaguchi Y, Jin W, Arakawa Y, Goto M. Detection of a metallo- β -lactamase (IMP-1) by fluorescent probes having dansyl and thiol groups. *Org Biomol Chem*. 2003 Jan 7;1(1):17-20.

61. Goto M, Yasuzawa H, Higashi T, Yamaguchi Y, Kawanami A, Mifune S, Mori H, Nakayama H, Harada K, Arakawa Y. Dependence of hydrolysis of β -lactams with a zinc(II)- β -lactamase produced from *Serratia marcescens* (IMP-1) on pH and concentration of zinc(II) ion: dissociation of Zn(II) from IMP-1 in acidic medium. *Biol Pharm Bull*. 2003 May;26(5):589-94.

60. Shibayama K, Kamachi K, Nagata N, Yagi T, Nada T, Doi Y, Shibata N, Yokoyama K, Yamane K, Kato H, Iinuma Y, Arakawa Y. A novel apoptosis-inducing protein from *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol*. 2003 Jan;47(2):443-51.

59. Ozawa Y, Tanimoto K, Nomura T, Yoshinaga M, Arakawa Y, Ike Y. Vancomycin-resistant enterococci in humans and imported chickens in Japan. *Appl. Environ. Microbiol*. 2002 Dec;68(12):6457-61.

58. Doi Y, Shibata N, Shibayama K, Kamachi K, Kurokawa H, Yokoyama K, Yagi T, Arakawa Y. Characterization of a novel plasmid-mediated cephalosporinase (CMY-9) and its genetic environment in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002 Aug;46(8):2427-34.

57. Ohkawa T, Yoshinaga M, Ikarimoto N, Miyanochara H, Miyata K, Doi Y, Shibata N, Arakawa Y. Characterization of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains that produce CTX-M-2-type broad spectrum β -lactamase isolated from a child with leukemia. *Pediatr. Infect. Dis. J*. 2002 Mar;21(3):260-2.

56. Horiuchi Y, Takahashi M, Konda T, Ochiai M, Yamamoto A, Kataoka M, Toyozumi H, Arakawa Y. Quality control of diphtheria tetanus acellular pertussis combined (DTaP) vaccines in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis*. 2001 Oct;54(5):167-80. Review.

55. Ike Y, Arakawa Y, Ma X, Tatewaki K, Nagasawa M, Tomita H, Tanimoto K, Fujimoto S. Nationwide survey shows that methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains heterogeneously and intermediately resistant to vancomycin are not disseminated throughout Japanese hospitals. *J. Clin. Microbiol*. 2001 Dec;39(12):4445-51.

54. Okazaki N, Narita M, Yamada S, Izumikawa K, Umetsu M, Kenri T, Sasaki Y, Arakawa Y, Sasaki T. Characteristics of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* strains isolated from patients and induced with erythromycin in vitro. *Microbiol. Immunol*. 2001;45(8):617-20.

53. Shibayama K, Doi Y, Shibata N, Yagi T, Nada T, Iinuma Y, Arakawa Y. Apoptotic signaling pathway activated by *Helicobacter pylori* infection and increase of apoptosis-inducing activity under serum-starved conditions. *Infect. Immun*. 2001 May;69(5):3181-9.

52. Arakawa Y, Ike Y, Nagasawa M, Shibata N, Doi Y, Shibayama K, Yagi T, Kurata T. Trends in antimicrobial-drug resistance in Japan. *Emerg Infect Dis*. 2000 Nov-Dec;6(6):572-5.

51. Kato N, Sugiyama T, Naito S, Arakawa Y, Ito H, Kido N, Ohta M, Sasaki K. Molecular structure of bacterial endotoxin (*Escherichia coli* Re lipopolysaccharide): implications for formation of a novel heterogeneous lattice structure. *Mol Microbiol*. 2000 May;36(4):796-805.

50. Komiya T, Shibata N, Ito M, Takahashi M, Arakawa Y. Retrospective diagnosis of diphtheria by detection of the *Corynebacterium diphtheriae* tox gene in a formaldehyde-fixed throat swab using PCR and sequencing analysis. *J Clin Microbiol*. 2000 Jun;38(6):2400-2.

49. Kurokawa H, Yagi T, Shibata N, Shibayama K, Kamachi K, Arakawa Y. A new SHV-derived extended-spectrum β -lactamase (SHV-24) that hydrolyzes ceftazidime through a single-amino-acid substitution (D179G) in the Ω -loop. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 Jun;44(6):1725-7.

48. Yagi T, Kurokawa H, Shibata N, Shibayama K, Arakawa Y. A preliminary survey of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. *FEMS Microbiol Lett*. 2000 Mar 1;184(1):53-6.

47. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K, Kurokawa H, Yagi T, Fujiwara H, Goto M. Convenient test for screening metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J Clin Microbiol*. 2000 Jan;38(1):40-3.

46. Ito H, Naito S, Arakawa Y, Sasaki K, Kato N. Crystallization of lipopolysaccharide from a *Salmonella typhimurium* semi-rough (SR) mutant. *Microbiol Immunol*. 1999;43(8):759-63.

45. Kawamura-Sato K, Shibayama K, Horii T, Iinuma Y, Arakawa Y, Ohta M. Role of multiple efflux pumps in *Escherichia coli* in indole expulsion. *FEMS Microbiol Lett*. 1999 Oct 15;179(2):345-52.

44. Kurokawa H, Yagi T, Shibata N, Shibayama K, Arakawa Y. Worldwide proliferation of carbapenem-resistant gram-negative bacteria. *Lancet*. 1999 Sep 11;354(9182):955.

43. Shibayama K, Ohsuka S, Tanaka T, Arakawa Y, Ohta M. Conserved structural regions involved in the catalytic

- mechanism of *Escherichia coli* K-12 WaaO (RfaI). *J. Bacteriol.* 1998 Oct;180(20):5313-8.
42. Fukuda T, Kimiya T, Takahashi M, Arakawa Y, Ami Y, Suzaki Y, Naito S, Horino A, Nagata N, Satoh S, Gondaira F, Sugiyama J, Nakano Y, Mori M, Nishinohara S, Komuro K, Uchida T. Induction of protection against oral infection with cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in mice by shiga-like toxin-liposome conjugate. *Int Arch Allergy Immunol.* 1998 Aug;116(4):313-7.
41. Yagi T, Kurokawa H, Senda K, Ichiyama S, Ito H, Ohsuka S, Shibayama K, Shimokata K, Kato N, Ohta M, Arakawa Y. Nosocomial spread of cephem-resistant *Escherichia coli* strains carrying multiple Toho-1-like β -lactamase genes. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997 Dec;41(12):2606-11.
40. Goto M, Takahashi T, Yamashita F, Koreeda A, Mori H, Ohta M, Arakawa Y. Inhibition of the metallo- β -lactamase produced from *Serratia marcescens* by thiol compounds. *Biol Pharm Bull.* 1997 Nov;20(11):1136-40.
39. Tanaka T, Horii T, Shibayama K, Sato K, Ohsuka S, Arakawa Y, Yamaki K, Takagi K, Ohta M. RobA-induced multiple antibiotic resistance largely depends on the activation of the AcrAB efflux. *Microbiol Immunol.* 1997;41(9):697-702.
38. Matsumoto M, Murai T, Ichiyama S, Saito M, Arakawa Y, Ohta M. Prevalence of the *speA2* and *speA3* alleles in *Streptococcus pyogenes* isolated from TSLs patients in Japan. *FEMS Microbiol Lett.* 1997 May 15;150(2):233-7.
37. Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S, Shimokata K, Kato N, Ohta M. PCR detection of metallo- β -lactamase gene (*bla_{IMP}*) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum β -lactams. *J Clin Microbiol.* 1996 Dec;34(12):2909-13.
36. Kimura K, Arakawa Y, Ohsuka S, Ito H, Suzuki K, Kurokawa H, Kato N, Ohta M. Molecular aspects of high-level resistance to sulbactam-cefoperazone in *Klebsiella oxytoca* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996 Sep;40(9):1988-94.
35. Senda K, Arakawa Y, Nakashima K, Ito H, Ichiyama S, Shimokata K, Kato N, Ohta M. Multifocal outbreaks of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* resistant to broad-spectrum β -lactams, including carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996 Feb;40(2):349-53.
34. Kato N, Naito S, Arakawa Y, Sugiyama T, Ito H, Ohta M, Sasaki K. Crystallization of synthetic *Escherichia coli*-type lipid A. *Microbiol Immunol.* 1996;40(1):33-8.
33. Kato N, Ohta M, Arakawa Y, Naito S, Sugiyama T, Ito H, Kido N, Sasaki K, Asai J. Crystallization of an R-form lipopolysaccharide from *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiol Immunol.* 1996;40(6):407-13.
32. Ohsuka S, Arakawa Y, Horii T, Ito H, Ohta M. Effect of pH on activities of novel β -lactamases and beta-lactamase inhibitors against these β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 Aug;39(8):1856-8.
31. Arakawa Y, Murakami M, Suzuki K, Ito H, Wacharotayankun R, Ohsuka S, Kato N, Ohta M. A novel integron-like element carrying the metallo- β -lactamase gene *bla_{IMP}*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 Jul;39(7):1612-5.
30. Arakawa Y, Wacharotayankun R, Nagatsuka T, Ito H, Kato N, Ohta M. Genomic organization of the *Klebsiella pneumoniae cps* region responsible for serotype K2 capsular polysaccharide synthesis in the virulent strain Chedid. *J Bacteriol.* 1995 Apr;177(7):1788-96.
29. Ito H, Arakawa Y, Ohsuka S, Wacharotayankun R, Kato N, Ohta M. Plasmid-mediated dissemination of the metallo- β -lactamase gene *bla_{IMP}* among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 Apr;39(4):824-9.
28. Agata N, Ohta M, Arakawa Y, Mori M. The *bceT* gene of *Bacillus cereus* encodes an enterotoxigenic protein. *Microbiology.* 1995 Apr;141 (Pt 4):983-8.
27. Horii T, Arakawa Y, Ohta M, Sugiyama T, Wacharotayankun R, Ito H, Kato N. Characterization of a plasmid-borne and constitutively expressed *bla_{MOX-1}* gene encoding AmpC-type β -lactamase. *Gene.* 1994 Feb 11;139(1):93-8.
26. Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, Yoshimura F, Kato N. Molecular characterization of an enterobacterial metallo β -lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994 Jan;38(1):71-8.
25. Ohsuka S, Ohta M, Masuda K, Arakawa Y, Kaneda T, Kato N. Lidocaine hydrochloride and acetylsalicylate kill bacteria by disrupting the bacterial membrane potential in different ways. *Microbiol Immunol.* 1994;38(6):429-34.
24. Kato N, Arakawa Y, Sugiyama T, Ito H, Naito S, Kido N, Ohta M, Sasaki K. Crystallization and analyses of crystals of various chemotypes of R-form lipopolysaccharides from *Salmonella* spp. *Microbiol Immunol.* 1994;38(8):629-37.
23. Wacharotayankun R, Arakawa Y, Ohta M, Tanaka K, Akashi T, Mori M, Kato N. Enhancement of extracellular polysaccharide synthesis in *Klebsiella pneumoniae* by RmpA2, which shows homology to NtrC and FixJ. *Infect Immun.* 1993 Aug;61(8):3164-74.
22. Horii T, Arakawa Y, Ohta M, Ichiyama S, Wacharotayankun R, Kato N. Plasmid-mediated AmpC-type β -lactamase

- isolated from *Klebsiella pneumoniae* confers resistance to broad-spectrum β -lactams, including moxalactam. Antimicrob Agents Chemother. 1993 May;37(5):984-90.
21. Kato N, Ohta M, Kido N, Arakawa Y, Sugiyama T, Naito S, Ito H. Polymorphism of crystals of *Salmonella minnesota* Re and Ra lipopolysaccharides. Microbiol Immunol. 1993;37(7):549-55.
 20. Ohta M, Ito H, Masuda K, Tanaka S, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Kato N. Mechanisms of antibacterial action of tachyplesins and polyphemusins, a group of antimicrobial peptides isolated from horseshoe crab hemocytes. Antimicrob Agents Chemother. 1992 Jul;36(7):1460-5.
 19. Wacharotayankun R, Arakawa Y, Ohta M, Hasegawa T, Mori M, Horii T, Kato N. Involvement of *rscB* in *Klebsiella* K2 capsule synthesis in *Escherichia coli* K-12. J Bacteriol. 1992 Feb;174(3):1063-7.
 18. Ito H, Kido N, Arakawa Y, Ohta M, Sugiyama T, Kato N. Possible mechanisms underlying the slow lactose fermentation phenotype in *Shigella* spp. Appl Environ Microbiol. 1991 Oct;57(10):2912-7.
 17. Komatsu T, Ohta M, Kido N, Arakawa Y, Ito H, Kato N. Increased resistance to multiple drugs by introduction of the *Enterobacter cloacae roma* gene into OmpF porin-deficient mutants of *Escherichia coli* K-12. Antimicrob Agents Chemother. 1991 Oct;35(10):2155-8.
 16. Ohta M, Ina K, Kusuzaki K, Kido N, Arakawa Y, Kato N. Cloning and expression of the *rfe-rff* gene cluster of *Escherichia coli*. Mol Microbiol. 1991 Aug;5(8):1853-62.
 15. Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Shoji K, Watahiki M, Horii T, Kato N. Construction of a novel suicide vector: selection for *Escherichia coli* HB101 recombinants carrying the DNA insert. Gene. 1991 Jul 31;104(1):81-4.
 14. Arakawa Y, Ohta M, Wacharotayankun R, Mori M, Kido N, Ito H, Komatsu T, Sugiyama T, Kato N. Biosynthesis of *Klebsiella* K2 capsular polysaccharide in *Escherichia coli* HB101 requires the functions of *rmpA* and the chromosomal *cps* gene cluster of the virulent strain *Klebsiella pneumoniae* Chedid (01:K2). Infect Immun. 1991 Jun;59(6):2043-50.
 13. Komatsu T, Ohta M, Kido N, Arakawa Y, Ito H, Mizuno T, Kato N. Molecular characterization of an *Enterobacter cloacae* gene (*roma*) which pleiotropically inhibits the expression of *Escherichia coli* outer membrane proteins. J Bacteriol. 1990 Jul;172(7):4082-9.
 12. Ohta M, Kido N, Jann K, Arakawa Y, Komatsu T, Ito H, Kato N. Cloning and expression of *rfe* gene. Adv Exp Med Biol. 1990;256:137-9.
 11. Kato N, Ohta M, Kido N, Ito H, Arakawa Y, Naito S. Electron microscopic observation of crystals of *Escherichia coli* K-12 lipopolysaccharide. Microbiol Immunol. 1990;34(8):665-74.
 10. Sugiyama T, Kido N, Arakawa Y, Mori M, Naito S, Ohta M, Kato N. Rapid small-scale preparation method of cell surface polysaccharides. Microbiol Immunol. 1990;34(7):635-41.
 9. Kato N, Ohta M, Kido N, Arakawa Y, Ito H, Naito S. Inhibitory effect of Ca^{2+} on formation of Mg^{2+} -mediated two-dimensional hexagonal lattice structure by an R-form lipopolysaccharide from *Klebsiella pneumoniae*. Microbiol Immunol. 1990;34(5):427-38.
 8. Kato N, Ohta M, Kido N, Ito H, Naito S, Arakawa Y, Komatsu T. Relationship between Mg^{2+} -induced hexagonal assembly of R-form lipopolysaccharides and chemical structure of their R-cores. Microbiol Immunol. 1990;34(3):245-57.
 7. Kido N, Ohta M, Ito H, Iida K, Arakawa Y, Komatsu T, Jann K, Kato N. Cloning and analysis of *rfb* gene synthesizing the mannan O side chain of *Escherichia coli* O9 lipopolysaccharide. Adv Exp Med Biol. 1990;256:141-5.
 6. Kido N, Ohta M, Iida K, Hasegawa T, Ito H, Arakawa Y, Komatsu T, Kato N. Partial deletion of the cloned *rfb* gene of *Escherichia coli* O9 results in synthesis of a new O-antigenic lipopolysaccharide. J Bacteriol. 1989 Jul;171(7):3629-33.
 5. Arakawa Y, Ohta M, Kido N, Mori M, Ito H, Komatsu T, Fujii Y, Kato N. Chromosomal β -lactamase of *Klebsiella oxytoca*, a new class A enzyme that hydrolyzes broad-spectrum β -lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother. 1989 Jan;33(1):63-70.
 4. Mori M, Ohta M, Agata N, Kido N, Arakawa Y, Ito H, Komatsu T, Kato N. Identification of species and capsular types of *Klebsiella clinical* isolates, with special reference to *Klebsiella planticola*. Microbiol Immunol. 1989;33(11):887-95.
 3. Ohta M, Kido N, Hasegawa T, Ito H, Fujii Y, Arakawa Y, Komatsu T, Kato N. Contribution of the mannan O side-chains to the adjuvant action of lipopolysaccharides. Immunology. 1987 Apr;60(4):503-7.
 2. Ohta M, Kido N, Fujii Y, Arakawa Y, Komatsu T, Kato N. Temperature-sensitive growth mutants as live vaccines against experimental murine salmonellosis. Microbiol Immunol. 1987;31(12):1259-65.
 1. Arakawa Y, Ohta M, Kido N, Fujii Y, Komatsu T, Kato N. Close evolutionary relationship between the chromosomally encoded β -lactamase gene of *Klebsiella pneumoniae* and the TEM β -lactamase gene mediated by R plasmids. FEBS Lett. 1986 Oct 20;207(1):69-74.

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 新型薬剤耐性菌等に関する研究 (H21-新興一般-008)

研究代表者 国立感染症研究所 細菌第二部 荒川 宣親

研究の意義:

- 多種多様な新型の薬剤耐性菌が相次いで出現しつつあるが、それらの実態が不明
- 新型の薬剤耐性菌が獲得している耐性機序が不明、またそれらの有効な検査法が未確立
- 医療機関内での薬剤耐性菌の伝播防止策が徹底できていない医療機関がある

これまで VRE, MRSA, ペニシリン耐性肺炎球菌, ESSL産生大腸菌/肺炎球菌

1990 2000 2010

現時点では 多剤耐性緑膿菌, 多剤耐性アンネトバクター, NDM-1産生する多剤耐性肺炎球菌や大腸菌, KPC産生大腸菌/肺炎球菌, アミノペニシリン耐性肺炎球菌, フロロキノロン/広域β-ラクタム耐性大腸菌, ガテフロキサシンなどに耐性を獲得した強毒型 *C. difficile*

近い将来は ペニシリン/マクロライド/フルオロキノロン耐性肺炎球菌, エリスロマイシン/テトラサイクリン耐性マイコプラズマ, プラスミド依存性のフルオロキノロン耐性菌, アミノ配糖体耐性緑膿菌や肺炎球菌等のグラム陰性菌, ペニシリン低感受性B群レンサ球菌(PRGSB)

薬剤耐性菌の種類が多種 新型耐性菌も続々と出現 薬剤耐性の機構が多様

確認検査法が未確立

実態の把握が困難

実効ある対策が困難

基礎研究の強化による検査法の開発

分子疫学的解析手法を取り入れたサーベイランスの強化 (JANIS事業)

医療現場における耐性菌対策および感染制御の支援

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 新型薬剤耐性菌等に関する研究 (H21-新興一般-008)

研究の目的と期待される成果:

- 新型の薬剤耐性菌が獲得している新しい耐性機序を分子、遺伝子レベルで解明
- 解明した耐性機序に基づいて、それらの検出法、検査法を構築
- 新型の薬剤耐性菌などの発生動向、薬剤耐性の獲得状況などを把握
- 医療現場における薬剤耐性菌の蔓延やそれらによる感染症患者の多発を防止する

耐性菌基礎研究グループ

多剤耐性アンネトバクター: 荒川宣親, 山口恵三 教授
 多剤耐性緑膿菌: 切替照雄 部長, 飯沼嗣教授
 プラスミド性フルオロキノロン耐性、アミノ配糖体超高度耐性: 荒川 宣親 教授
 ペニシリン低感受性B群レンサ球菌(PRGSB): 荒川 宣親 教授
 ホスホマイシン耐性機序: 荒川, MRSA: 松本 哲哉 教授, VRE: 池 康嘉 教授
 PRSP: 和田昭仁 室長, ケトライド耐性肺炎球菌: 山本友子 教授
 メタロ-β-ラクタマーゼの分子構造と機能の解析/阻害剤/検査試薬の開発: 黒崎博雅 准教授
 抗酸菌における抗核薬耐性機序の解明/分子疫学解析: 柴山恵吾 室長, 松本智成 部長
 新しい分子疫学解析手法の開発: 倉田敏 所長, 飯沼嗣 教授

サーベイランス研究グループ

院内感染対策サーベイランス(JANIS)の向上: 鈴木和 主任研究官, 山根一 主任研究官
 JANISの部門別サーベイランス: ICU部門 土手健太郎 准教授, NICU部門 北島博之 部長
 検査部門 山口恵三 教授, 藤本修平 教授, 長沢光章 技師長, SSI部門 小西 敏郎 部長
 全入院患者部門 (主要耐性菌感染症) 河野文雄 副院長
 細菌検査データの精度管理: 長沢光章 技師長
 国立大学附属病院感染対策協議会との連携: 山 智 教授
 アウトブレイク対応支援: 宮崎久義 院長
 疫学的観点からの支援: 谷原真一 准教授
 解析データの効果的な還元: 森兼啓 准教授

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 新型薬剤耐性菌等に関する研究 (H21-新興一般-008)

2年間の研究成果:

- アンネトバクターの中の薬剤耐性株は、消毒薬にも抵抗性を示す株が多いことを確認

国内97の医療機関から提供された283株の *Acinetobacter* 属菌

Correlation between reduced susceptibility to disinfectants and multidrug resistance among clinical isolates of *Acinetobacter* species

CHX: グルコン酸クロルヘキシジン, BZK: 塩化ベンザルコニウム, BZT, 塩化ベンゼトニウム, ADH: アルキルジメチルエチルグリシン塩増成剤

新規薬剤耐性菌等に関する研究 (H21-新興一般-008)

Ⅰ 肺炎球菌のテトラシcline耐性機序から内臓伝播機構

千歳大学薬学部 山本友子 先生

これまでの成果

2009年~2010年に全国の医療機関で分離された500株の肺炎球菌からテトラシcline (TEL) 耐性株 (MIC=4 μg/ml) が複数検出された。先行の2005~2008年分離339株の調査では、低感受性菌が1株検出されたものの耐性菌は含まれていなかった。国内で肺炎球菌のTEL耐性化が少なからず進行していることが示唆されている。

Ⅱ erm遺伝子群によるテトラシcline耐性機序

これまでの成果

近年分離のテトラシcline (TEL) 耐性肺炎球菌は83%の割合でermB型であったがTEL感受性であった。ermBを失効的に黄色ブドウ球菌(ブドウ)に導入したermB-TEL遺伝子組換え株を構築した。ermB型肺炎球菌のermBは、ermA 92%, ermB 0%, ermC 7.8%であった。ermAあるいはermCの黄色ブドウ球菌はermB型耐性のみならずTEL高度耐性を示した。これに対し、ermAとermCを同時に導入した肺炎球菌は、ermB高度耐性を示した。TEL耐性菌は獲得した。

Ⅲ H23最終目標: 耐性菌分離マップの作成 耐性機序の基礎解析

高濃度耐性株 PCG MIC 3.4 μg/ml, 低濃度耐性株 ST1464, 19A [ST320] が分離されはめている

多剤耐性緑膿菌の院内感染に関する研究

分科研究代表者 岩間 隆雄 (国立国際医療研究センター・感染症制御研究部)

① 多剤耐性緑膿菌の全国アンケート調査

対象: 2008以上の全国の医療機関および研究機関 (277機関)

実施期間: 1. 調査 (10月~12月) 2. 報告 (1月~2月) 3. 結果発表 (3月)

② 多剤耐性緑膿菌の迅速検出法開発と分子疫学解析

③ 緑膿菌の院内感染に関する研究

④ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑤ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑥ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑦ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑧ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑨ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑩ 緑膿菌の院内感染に関する研究

新規薬剤耐性菌等に関する研究 (H21-新興一般-008)

Ⅰ 緑膿菌の院内感染に関する研究

① 緑膿菌の院内感染に関する研究

② 緑膿菌の院内感染に関する研究

③ 緑膿菌の院内感染に関する研究

④ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑤ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑥ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑦ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑧ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑨ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑩ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑪ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑫ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑬ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑭ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑮ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑯ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑰ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑱ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑲ 緑膿菌の院内感染に関する研究

⑳ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉑ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉒ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉓ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉔ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉕ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉖ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉗ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉘ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉙ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉚ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉛ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉜ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉝ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉞ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㉟ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊱ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊲ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊳ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊴ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊵ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊶ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊷ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊸ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊹ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊺ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊻ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊼ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊽ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊾ 緑膿菌の院内感染に関する研究

㊿ 緑膿菌の院内感染に関する研究

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 新型薬剤耐性菌等に関する研究 (H21-新興一般-008)

Microbe August 2010

CTX-M-型ESBL産生大腸菌は、ホスホマイシンに対し高い感受性を有し、有効性が期待できる。ただし、一部に新しい耐性分子を獲得した株が出現。

JOURNAL HIGHLIGHTS

Resurrecting an Old Antibiotic against Extended-Spectrum β -Lactamase Producers

The spread of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* is becoming a global threat. These bacteria are often multidrug-resistant. Now Jun-ichi Wachino and colleagues of the National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, show that the old antibiotic, fosfomicin, was able to maintain a high level of antimicrobial activity against ESBL-producing *E. coli*. Yet, new resistant strains have already developed among ESBL-producers, says Wachino. Two fosfomicin-inactivating enzymes, FosA3 and FosC2, are collocated with CTX-M β -lactamase on transferable plasmids. "We plan to determine the crystal structure of FosA3 and FosC2 enzymes, and develop potent inhibitors of these enzymes based on their structures," says Wachino. In addition to restoring fosfomicin's efficacy against resistant bacteria, these could be applied to developing rapid screening for fosfomicin-resistant bacteria in clinical microbiology laboratories, he says.

U. Wachino, K. Yamana, S. Suzuki, K. Kimura, and Y. Arakawa. 2010. Prevalence of fosfomicin resistance among CTX-M-producing *Escherichia coli* clinical isolates in Japan and identification of novel plasmid-mediated fosfomicin-modifying enzymes. *Antimicrob Agents Chemother.* 54:3061-3064

Volume 5, Number 8, 2010 / *Microbe* = 347

最終目標:本研究では、アミノグリコシド耐性菌が産生する16S rRNAメチル基転移酵素(RmB)の基質認識・メチル基転移機構並びにメタロ- β -ラクタマーゼの基質認識・加水分解機構の解明とこれら酵素の立体構造に基づいた阻害剤・阻害剤を開発する。

2年目の成果

1. *Chryseobacterium indologenes*由来のNDM-7メタロ- β -ラクタマーゼのX線結晶構造に成功

2. *Pseudomonas aeruginosa*由来のVIM-2メタロ- β -ラクタマーゼCol(II)置換酵素のX線結晶構造に成功

論文の図が表紙に掲載

VIM-2メタロ- β -ラクタマーゼCol(II)置換酵素の全体構造(左)活性中心(右) Wai1はCd1とCd2に連続して配位している。Anz233はWai1が基質へ求核攻撃できるように方向付ける役割を担っていると考えられる。

宇宙の無重力空間で巨大結晶を作成するプロジェクトに探沢

現在のサーベイランス運営体制

国・厚生労働省 感染症情報センター (NIC) 感染症情報系 (JANIS)

都道府県 保健所 医療機関

感染症発生動向調査 (サーベイランス) 感染症発生報告 (JANIS)

感染症発生動向調査 (サーベイランス) 感染症発生報告 (JANIS)

感染症発生動向調査 (サーベイランス) 感染症発生報告 (JANIS)

セフトキシム、レボフロキサシ耐性大腸菌

イミペネム耐性アシネトバクター

表: 2009年10月1日現在までの調査結果

JANIS事業でのデータの集計結果の点検等精度管理と公開情報の例

イミペネム耐性大腸菌

イミペネム耐性肺炎桿菌

国内で分離される、大腸菌や、肺炎桿菌では、カルバペネムに耐性を獲得した株は、極めて稀であり、NDM-1やKPC型カルバペネマーゼを産生する株が、広く蔓延している状況には無い。

2DCM-web実用化/2DCM-web実証試験 2DCM-web大規模実証試験 (~H22)

JANIS検査部門への2DCM-web実装動作検証 (H23~)

アウトブレイクの発生を迅速に把握可能なシステムの開発し、JANIS事業に連結

複数施設のデータ即時取得/複数施設のデータ自動解析 複数施設の菌株収集システムの確立 (~H22)

電子疫学データのマクロ疫学、分子疫学データとの突合、電子疫学データの精度向上 (H23~)

施設を超えた耐性菌拡散の状況把握 (予備研究) (~H22)

地域レベルでの耐性菌拡散、拡散の危険のある耐性菌の自動検出 (H23~)

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 新型薬剤耐性菌等に関する研究 (H21-新興一般-008)

NDM-1等を産生する多剤耐性菌の緊急調査

背景

Lancet Inf. Dis.の電子版(8月号)で、NDM-1と呼ばれる新しいメタロ- β -ラクタマーゼを産生し、多剤耐性を獲得した肺炎桿菌や大腸菌の世界的流行の危険性が指摘され、国内でも北海道旭川市の大学病院に入院していた患者より、NDM-1産生大腸菌が検出された。

2010年9月10日 結核感染症課 課長通知 2010年9月15日より12月28日まで

カルバペネムや広域セフェム、フルオロキノロン、アミノグリコシドの3系統の抗菌薬に広範な耐性を示し、NDM-1等の産生が疑われる腸内細菌科の菌株に対し、PCRシークエン্স解析を実施

我が国における新たな多剤耐性菌の緊急調査等について (要綱)

厚生労働省健康局結核感染症課長

表: 調査対象となる菌の範囲や、調査方法については、別添1に示すとおりです。

併せて、多剤耐性菌に関する、一般向けの情報を別添2にお示しします。この情報は、厚生労働省のホームページにも掲載いたしましたので、お知らせします。

{多剤耐性菌に関するホームページアドレスは <http://www.mhlw.go.jp/baaya/koubou/sakka/sakka-homesite/19/multi-drug-resistant-bacteria.html> です。

国内で分離される、カルバペネム耐性腸内細菌では、IMP-型メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌が主であり、NDM-1やKPC型カルバペネマーゼ産生菌は、現時点では、稀で多発することが確認された。しかし、海外では広範囲で、継続的な動向の把握が必要。

メルカプト disk 法 (SMA-disk method)

メルカプト化合物

NDM-1産生株に対し、SMA disk法を実施した場合

使用説明書に記載された原法では、「陰性」

CMY-型やCTX-M-型などの別種のβ-ラクタマーゼを同時に産生するためか？

SMA=メルカプト酢酸Na=チオグリコール酸Na

HS-C(=O)-O-Na

Control disk

SMA ディスク

平成31年度 (厚生科学研究所発注)
 (製薬・医療感染症学専攻) により開発、製剤化

国内分離NDM-1陽性2株に対する「modified SMA-disk method」(参考情報)

NDM-1産生株は、同時に、CMY-型やCTX-M-型のβ-ラクタマーゼを複数産生する株があり、また、IPMなどのカルバペナムのMIC値が、1~4 μg/mlと低い株もあり、薬剤感受性のパターンのみでは、識別が難しい株があることが、これまでの発表論文や、2010年9月のICAACなどで指摘 (Q2-101) されています。国内でこれまでに確認された2株のNDM-1陽性株 (*E. coli*と*K. pneumoniae*) について、「modified SMA disk法」を実施した結果、以下の知見が得られましたので、情報提供させていただきます。

解説：国内分離のNDM-1産生の2株に対する、IPMのMIC値は、微量液体希釈法やEtestでは、2 μg/ml程度であり、disk法では、IPMのdiskの周囲に発育阻止円が観察されます(左図)。しかし、MEPMのMIC値は、それより高く、MEPMのdiskの周囲には、若干の阻止円が観察されるのみです(右図)。

そこで、MEPMのdiskとSMA diskを組み合わせることで、IPM MICが低いNDM-1産生株でも、MEPMのdisk周囲に明瞭な阻止円の拡大が観察され、判定が可能となることが明らかになりました。

FO系およびアミノ配糖体系に(R)で、IPMに(I)または(S)と判定された株であっても、CAZが(R)となる株が分離された場合には、もし、お手元にMEPMとSMAのdiskがあれば、左記の試験をお試し下さい。

ご注意：9月10日付けの結核感染症課長通知に基づく「我が国における新たな多剤耐性菌の実態調査」においては、SMA disk法を実施されなくても、選抜基準に合致した薬剤感受性パターンを示す株が分離された場合は、国立感染症研究所に菌株をお送り頂ければ、解析を実施させていただきます。

NDM-1産生 *E. coli* (徳島医科大学病院分離株)

NDM-1産生 *K. pneumoniae* (さいたま市市民医療センター分離株)

(ご注意：IPMなどのカルバペナムを含むdiskや培地は、保管状況によっては、薬剤が失活しやすく、MIC値が実際より高く出ることがあります。)

薬剤耐性菌研究推進委員会 新薬・インフロンテック等特許・再発感染学専攻 新薬・薬剤耐性学等に関する研究室 東京都 2010-10-18

医療機関における院内感染対策マニュアル 作成のための手引き(案) (070828 ver. 5.0)

改訂作業を実施中

平成18年度厚生労働科学研究費補助金(医療・再興感染症研究事業) 「薬剤耐性菌等に関する研究」(1818-新興-11)

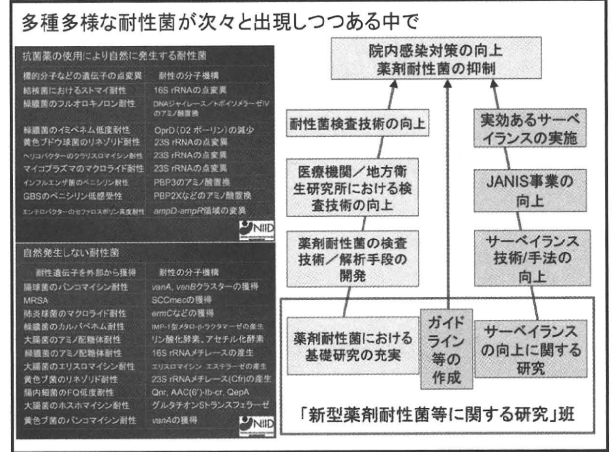
主任研究員: 荒川直樹

分担研究「医療機関における院内感染対策マニュアル作成のための手引き」 作成者の研究員

武原 純 (東北大学大学院医学系研究科感染・制御学専攻/教授(分科研究員))
 近川 直典 (国立感染症研究所感染制御部/部長)
 井上 智文 (国立感染症研究所感染制御部/付帯施設感染制御部)
 田辺 拓子 (NIBIOS 感染症/学術部長)
 小野寺博 (東北大学大学院医学系研究科感染・制御学専攻/助教)
 金光 敦二 (東北大学大学院医学系研究科感染・制御学専攻/助教)
 1. 藤子 (御前町感染症センター/感染部長)
 2. 高木 重典 (国立感染症研究所感染症・薬/主任研究員)
 3. 上村まつ子 (東北大学大学院医学系研究科/学術部長)
 4. 上村健太郎 (東北大学大学院医学系研究科感染制御部/学術部長)
 5. 藤野 知典 (東北大学大学院医学系研究科感染制御部/教授)
 6. 高田 博三 (東北大学大学院医学系研究科感染制御部/学術部長)
 7. 佐藤 宏典 (東北大学大学院医学系研究科感染制御部/学術部長)
 8. 野原 洋子 (東北大学大学院医学系研究科感染制御部/教授)
 9. 吉岡 明子 (東北大学大学院医学系研究科感染制御部/学術部長)
 10. 山崎 一樹 (国立感染症研究所感染制御部/主任研究員)
 11. 藤本 寛子 (東北大学大学院医学系研究科/講師)

作成の手順.....	1
院内感染対策に関連する法令等.....	3
院内感染対策の組織、機能、業務.....	7
標準的な感染予防策.....	11
感染経路別予防策.....	14
職業感染対策.....	17
院内感染対策のための抗菌薬の適正使用.....	20
病棟環境の整備・衛生管理.....	22
器材の洗浄・消毒・滅菌.....	28
感染制御カテゴリー別関連施設感染対策.....	30
人工呼吸器関連感染対策.....	32
手術部位感染対策.....	36
尿管留置カテーテル関連血縁感染対策.....	39
経腸栄養法に関する感染対策.....	45
内視鏡関連感染対策.....	48
病室個別感染防止対策.....	51
アウトブレイク対応策.....	56

さらに NICUにおける感染症予防の為にガイドラインの作成



平成 22 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：臓器移植患者の予後および QOL の向上のための真菌やウイルス感染症の予防・診断・治療に関する研究

課題番号：H21-新興-一般-009

予定期間：H21 年度から H23 年度まで

研究代表者：西條 政幸

所属研究機関：国立感染症研究所

所属部局：ウイルス第一部

職名：部長

年次別研究費(交付決定額)：1 年目 64,000,000 円 2 年目 57,600,000 円

I. 研究の意義

(1) 臓器移植患者におけるウイルス感染症に関する研究

造血幹細胞移植患者の移植治療中の呼吸器ウイルス感染症、重篤で致命率も高い EBV による移植後リンパ増殖症、移植患者等においてみられるヘルペスウイルス脳炎・脳症に関する前方視的研究により、臓器移植患者におけるウイルス感染症の実態を明らかにする。

(2) 臓器移植患者における真菌感染症に関する研究

生体肝移植後の生体肝移植後の侵襲性アスペルギルス症に関する研究、潜伏感染する病原真菌（クリプトコックス属）の感染機構解明、未だ培養法が確立していない細菌や真菌感染症の新規診断システム開発、等を実施する。

(3) 臓器移植患者の感染症治療・予防に関する研究

造血幹細胞／臓器移植患者におけるヒトサイトメガロウイルス（HCMV）感染症、薬剤耐性ヘルペスウイルス感染症に関する診断と治療法に関する基礎的、臨床的研究を行う。また、予防接種（ワクチン）等による感染症対策の有用性を検討する。

(4) 臓器移植患者における免疫能評価システム開発に関する研究

臓器移植や造血細胞移植後の病原体の定量的診断法や宿主側の抗原特異的免疫能の簡便な検査法はない。

II. 研究の目的、期待される成果

(1) 臓器移植患者におけるウイルス感染症に関する研究

造血幹細胞移植病棟におけるウイルス性呼吸器感染症の流行、免疫が極度に低下している患者が入院している患者病棟における流行の特徴を解明する。進行性多巣性白質脳症を疑われた患者の脳脊髄液におけるヘルペスウイルスの出現頻度を解析する。移植後リンパ増殖症の非侵襲迅速診断法としての末梢血中の EBV 感染細胞を検出できる FISH 法を開発する。

(2) 臓器移植患者における真菌感染症に関する研究

生体肝移植後の侵襲性アスペルギルス症の発症危険因子を解析する。臓器移植後に合併しやすいクリプトコックス感染症について、その潜伏感染機構の解明や感染診断系を開発する。培養法では診断できない細菌、真菌感染症を診断する。

(3) 臓器移植患者の感染症治療・予防に関する研究

新規抗ヘルペスウイルス化合物に関する基礎研究を行う。臓器・造血細胞移植における病原体の定量的検出を経時的に行うことにより、早期の感染症診断と治療を行うことが可能になる。臓器移植後安定した慢性期の患者において、新規感染(季節性および新型インフルエンザ)と再活性化感染(B型肝炎)を

モデルに、予防接種の安全性と効果についての情報を得る。

(4) 臓器移植患者における免疫能評価システム開発に関する研究

患者側の抗原特異的免疫能を評価することにより、抗ウイルス剤などの投与量や投与期間の判断を正確にできることが期待される。HHV-6 に対する細胞性免疫能の測定方法を確立する。

Ⅲ. 2 年間の研究成果

・ 研究代表者 (西條政幸)

進行性多巣性白質脳症を疑われた患者の脳脊髄液では、サイトメガロウイルスおよび水痘・帯状疱疹ウイルスが検出される場合があることを明らかにした。リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス感染症の診断システムを開発した。造血幹細胞移植患者における薬剤耐性単純ヘルペスウイルス感染症発生状況について解析した。

・ 研究分担者 (井上直樹)

2 種類の新規抗 VZV 化合物の作用点を明らかにした。抗ウイルス薬や新規化合物の簡便なスクリーニング・評価法を開発した。

・ 研究分担者 (一山 智)

研究課題「生体肝移植後感染症の臨床疫学調査」および「生体肝移植後の侵襲性アスペルギルス症の全国の実態調査」の計画を立案し、実施予定である。

・ 研究分担者 (大野秀明)

新規クリプトコックス抗原検出 ELISA キットを作製中である。

・ 研究分担者 (片野晴隆)

活動性 CMV を高感度に検出し、薬剤感受性を解析するための PML 法の有用性を検討した。

・ 研究分担者 (加藤俊一)

造血細胞移植後のヘルペスウイルス再活性化を経時的かつ定量的にモニタリングし、それぞれのウイルスの動態を明らかにした。HHV-6 に対する特異的リンパ球幼若化反応の評価システムの開発に着手した。

・ 研究分担者 (木内哲也)

肝移植後慢性期に安定した小児患者を対象に、季節性インフルエンザと新型インフルエンザのワクチン接種(異時)を行なった。また、肝移植後慢性期に安定した患者に再活性化阻止を目的に HBs 抗原ワクチン接種した。

・ 研究分担者 (木村 宏)

様々な EBV 関連リンパ増殖性疾患/リンパ腫の診断に有用な、EBV 陽性細胞の検出と表面形質の同定を同時に行う方法 (FISH 法) を確立した。

・ 研究分担者 (錫谷達夫)

患者血液から真菌 DNA を回収して菌種を同定する方法を確立した。患者血液から細菌の RNA を回収し、菌の検出と菌種同定を行う方法を確立した。

・ 研究分担者 (森康子)

HHV-6 に対する細胞性免疫能測定方法を、ボランティア健常人サンプルを用いて確立した。

・ 研究分担者 (吉川哲史)

Real-time RT-PCR 法による HHV-6 の 3 クラス遺伝子 (前初期、初期、後期) 発現の定量的解析法を確立した。

Ⅳ. 23 年度の課題

臓器移植患者における中枢神経系ウイルス感染症に関する病原体検出に基づく解析、薬剤耐性単純ヘルペスウイルス感染症のモニタリング、生体肝移植後の侵襲性アスペルギルス症の全国の実態調査、新規抗ウイルス化合物の解析・実用化・作用機序の解明等・基礎研究、クリプトコックス検出系の有用性の検討、造血幹細胞移植病棟における呼吸器ウイルス感染症の流行のモニタリングと予後等の臨

床像に関する研究、肝臓移植患者における予防接種のあり方に関する臨床研究、臓器・造血幹細胞移植後の移植後リンパ増殖症の診断のための FISH 法の有用性の検討、造血幹細胞移植患者における細胞性免疫回復状況の解析法の開発と評価、培養法によらない検査法の有用性の評価、等を継続する。

V. 行政施策への貢献の可能性

臓器移植患者における予後や QOL の向上に必要な診断法の整備、治療法や予防法の提言、さらに基礎的研究を通じた学術的貢献が可能となる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- ・研究代表者 (西條政幸)
- (1) Yagi T, Hattori H, Ohira M, Nakamichi K, Takayama-Ito M, Saijo M, Shimizu T, Ito D, Takahashi K, Suzuki N. Progressive multifocal leukoencephalopathy developed in incomplete Heerfordt syndrome, a rare manifestation of sarcoidosis, without steroid therapy responding to cidofovir. *Clin Neurol Neurosurg* 112(2):153-6, 2010
- ・分担研究者 (一山智)
- (1) Nagao M, Inuma Y, Saito T, Matsumura Y, Shirano M, Matsushima A, Takakura S, Ito Y, Ichiyama S. Close cooperation between infectious disease physicians and attending physicians can result in better management and outcome for patients with *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clin Microbiol Infect* 16(12):1783-8, 2010
- ・研究分担者 (井上直樹)
- (1) Yamada S, Kosugi I, Katano H, Fukui Y, Kawasaki H, Arai Y, Kurane I, noe N. In vivo imaging assay for the convenient evaluation of antiviral compounds against cytomegalovirus in mice. *Antiviral Res*, 88:45-52, 2010.
- ・研究分担者 (大野秀明)
- (1) Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Ishida-Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, Miyazaki Y. An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. *Internal Medicine* 49: 491-495, 2010
- ・研究分担者 (片野晴隆)
- (1) Shintaku M, Kaneda D, Tada K, Katano H, Sata T: Human herpes virus 6 encephalomyelitis after bone marrow transplantation: Report of an autopsy case. *Neuropathology* 30:50-55, 2010
- ・研究分担者 (加藤俊一)
- (1) Yabe H, Yabe M, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, Kato S. Rapid improvement of life-threatening capillary leak syndrome after stem cell transplantation by bevacizumab. *Blood* 115(13):2723-4, 2010
- (2) Hishizawa M, Kanda J, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T. Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study. *Blood* 116(8):1369-76, 2010
- ・研究分担者 (木内哲也)
- (1) Ishigami M, Kamei H, Nakamura T, Katano Y, Ando H, Kiuchi T, Goto H. Different effect of HBV vaccine after liver transplantation between chronic HBV carriers and non-HBV patients who received HBcAb-positive grafts. *J Gastroenterol* (in press)
- ・研究分担者 (木村宏)
- (1) Gotoh K, Ito Y, Ohta R, Iwata S, Nishiyama Y, Nakamura T, Kaneko K, Kiuchi T, Ando H, Kimura H. Immunologic and Virologic Analyses in Pediatric Liver Transplant Recipients with Chronic High Epstein-Barr Viral Loads. *Journal of Infectious Disease* 202:461-469, 2010
- ・研究分担者 (錫谷達夫)
- (1) Ishibashi K, Tokumoto T, Shirakawa H, Hashimoto K, Kushida N, Yanagida T, Shishido K, Aikawa K, Yamaguchi O, Toma H, Tanabe K, Suzutani T. Association between antibody response against

cytomegalovirus strain-specific glycoprotein H epitopes and HLA-DR. *Microbiology and Immunology* 53:412-416, 2009

- (2) Soeta N, Terashima M, Gotoh M, Mori S, Nishiyama K, Ishioka K, Kaneko H, ○Suzutani T. An improved rapid quantitative detection and identification method for a wide range of fungi. *J Med Microbiol* 58:1037-1044, 2009
 ・研究分担者 (谷口修一)
- (1) Asakura M, Ikegame K, Yoshihara S, ○Taniguchi S, Mori T, Etoh T, Takami A, Yoshida T, Fukuda T, Hatanaka K, Kanamori H, Yujiri T, Atsuta Y, Sakamaki H, Suzuki R, Ogawa H. Use of foscarnet for cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from a related donor. *International Journal of Hematology* 92(2):351-9, 2010
 ・研究分担者 (森康子)
- (1) Okamoto S, Hata A, Sadaoka K, Yamanishi K, Mori Y. Comparison of varicella-zoster virus-specific immunity of patients with diabetes mellitus and healthy individuals. *Journal of Infectious Disease* 200:1606-1610, 2010
 ・研究分担者 (吉川哲史)
- (1) Direct detection of human herpesvirus 6 DNA in serum by variant specific loop-mediated isothermal amplification in hematopoietic stem cell transplant recipients. Ihira M, Sugiyama H, Enomoto Y, Higashimoto Y, Sugata K, Asano Y, Yoshikawa T. *J Virol Methods* 167:103-6, 2010.

知的財産権申請：

1. 特願 2010-105396：「サイトメガロウイルスの検出のための細胞株およびその細胞株を使用した検出方法」発明者：後藤希代子、上野智規、佐々木純
2. 国際特許出願 PCT/JP2009/001173(WO)、ウイルス感染細胞の検出・同定法及びキット、2009-4.24 登録、発明者；木村 宏、西山幸廣、出願日；2009 年 3 月 17 日