

図3 咽頭炎由来株の T 型別 (2006-2012)

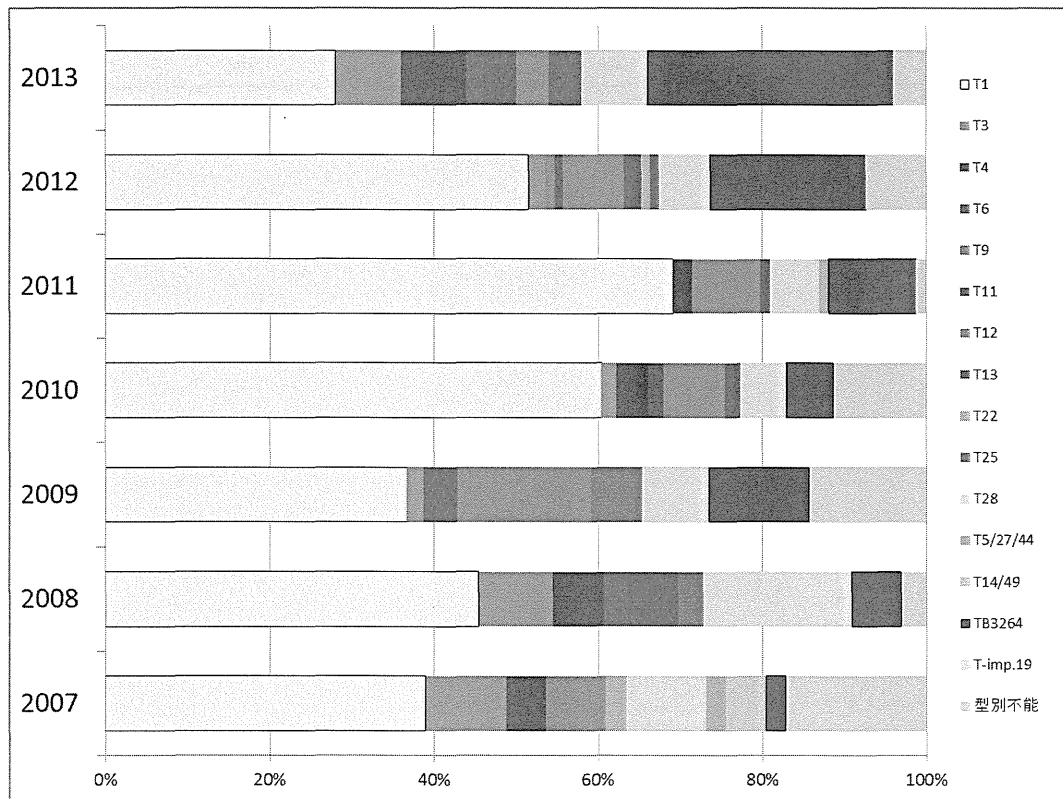


図4 劇症型溶レン菌感染症患者由来株の T 型別

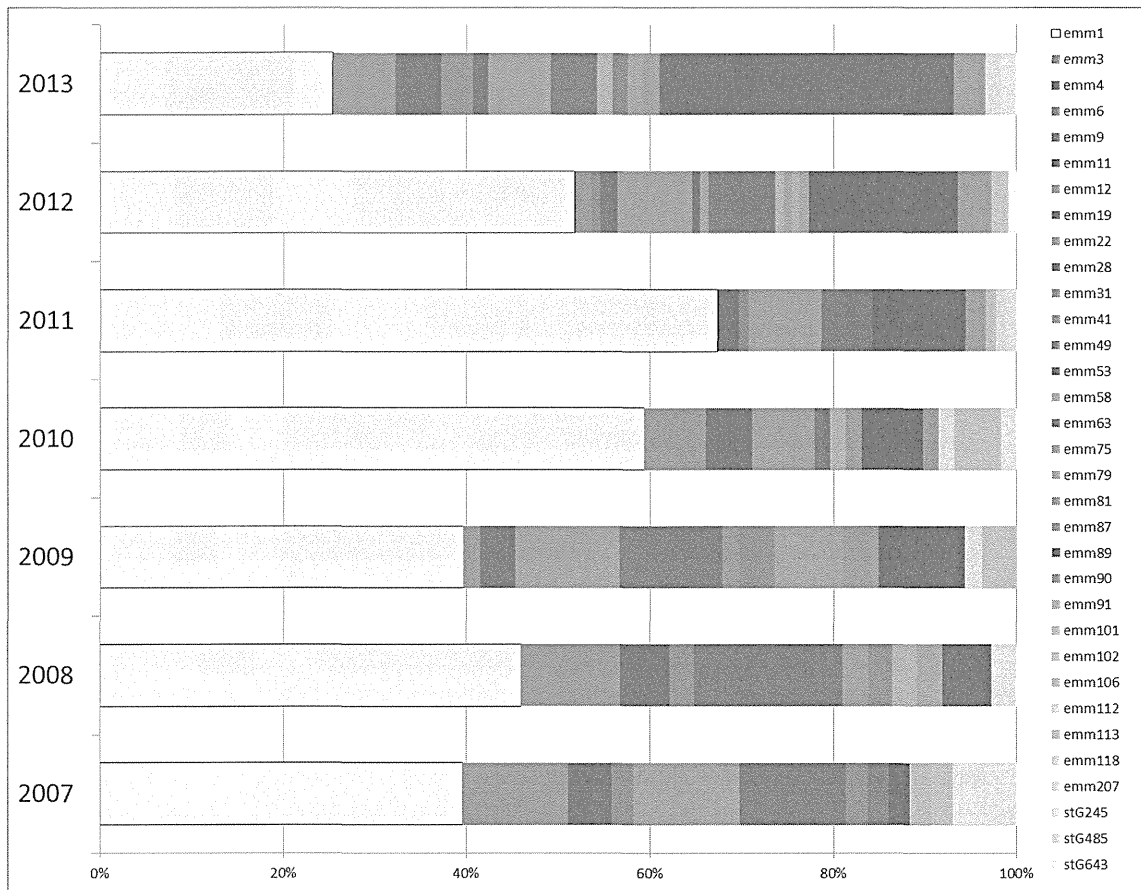


図5 劇症型溶レン菌感染症患者由来株の *emm* 型別

表 1 レジオネラ・レファレンスセンター収集臨床分離株 (2013年6月～2014年3月)

分離 No. 年	性別	感染源(推定、と記載していない場合は環境分離株とPFGE一致)	PFGE	NIIB (菌株 受付番号)	種名	血清 群	ST (Sequence Type)										Group (SG1)	同じSTの報告があるか
							flaA	pilE	asd	mip	mompS	proA	neuA					
285	2013	男	入浴中に意識消失(溺水は無、推定)		3015	<i>L. pneumophila</i>	1	363	7	6	3	3	13	11	11	B2	国外1例(国外環境は複数)	
286	2013	男	不明(今季未清掃の空調使用)		3016	<i>L. pneumophila</i>	1	679	27	3	9	15	56	5	6	S1	国内3例目	
287	2013	男	水道関係の仕事(暴雨災害後2日後感染推定)		3017	<i>L. pneumophila</i>	2	354	3	5	1	7	14	32	8	-	国内4例目、国外1例(全てSG2)	
288	2013	男	不明(自動車整備工、高圧洗浄水使用)		3020	<i>L. pneumophila</i>	1	1571	15	19	5	15	18	5	6	N	無	
289	2013	男	温泉(検査中)		3021	<i>L. pneumophila</i>	1	23	2	3	9	10	2	1	6	S1	国内18例目、国外	
290	2011	男	温泉(推定)		3024	<i>L. pneumophila</i>	1	89	4	10	11	15	29	1	6	(S1)	国内6例目、国外	
291	2012	女	不明(農作業)		3025	<i>L. pneumophila</i>	12	863	6	10	5	3	18	14	9	-	国外1例(SG6)	
292	2013	男	不明		3026	<i>L. pneumophila</i>	1	973	2	3	5	15	2	1	6	S1	国内2例目	
293	2013	男	不明		3069	<i>L. pneumophila</i>	3	93	3	10	1	28	14	9	13	-	国外多、県内9例目	
294	2013	男	不明(庭いじり、井戸水使用)		3077	<i>L. pneumophila</i>	1	1621	2	3	6	11	2	1	6	S1	無	
295	2013	女	不明(花壇への花植え程度)		3084	<i>L. pneumophila</i>	1	23	2	3	9	10	2	1	6	S1	国内19例目、国外	
296	2013	男	不明(自宅でシャワーのみ、塗装業)		3085	<i>L. pneumophila</i>	1	642	2	10	3	10	9	14	6	B1	国内2例目	
297	2013	男	不明(自宅風呂で入浴、畑があり水まき・草むしり、板金業)		3086	<i>L. pneumophila</i>	1	42	4	7	11	3	11	12	9	N	国内7例目、国外	
298	2013	男	不明(公衆浴場の利用なし、無職)		3087	<i>L. pneumophila</i>	1	120	2	3	5	11	2	1	6	S1	国内18例目、国外	
299	2012	男	不明(草取り、建設業)		3088	<i>L. pneumophila</i>	1	679	27	3	9	15	56	5	6	S1	国内4例目	
300	2013	男	不明(草刈機を使用)		3089	<i>L. pneumophila</i>	1	679	27	3	9	15	56	5	6	S1	国内5例目	
301	2013	男	不明(温泉施設・循環風呂・加湿器の利用なし、無職)		3090	<i>L. pneumophila</i>	1	687	7	6	17	21	35	11	9	B2	国内3例目	
302	2013	男	不明(近隣の温泉施設に1回/2日、土木業)		3102	<i>L. pneumophila</i>	1	1645	5	2	22	10	6	10	10	S2	無	
303	2013	男	不明(無職)		3106	<i>L. pneumophila</i>	1	1	1	4	3	1	1	1	1	C1	国内16例目、国外	
304	2013	男	高圧洗浄機で外壁を清掃		3109	<i>L. pneumophila</i>	1	758	2	3	9	15	2	1	6	S1	国外	
305	2013	男	不明(歯科医)		3111	<i>L. pneumophila</i>	1	127	3	13	1	10	14	9	11	U	国内環境(浴槽水)のみ	
306	2010	男	不明(毎日銭湯に行っていた)		3119	<i>L. pneumophila</i>	1	973	2	3	5	15	2	1	6	S1	国内3例目	
307	2011	男	不明(タイ、パンコク)		3120	<i>L. pneumophila</i>	1	1694	12	8	11	21	40	12	9	(S3)	無	
308	2012	男	ゴルフ場の浴場(推定)		3121	<i>L. pneumophila</i>	1	1693	3	6	1	14	8	8	9	(U)	無	
309	2013	男	温泉(推定)		3122	<i>L. pneumophila</i>	1	502	6	10	19	3	19	4	6	B1	国内2例目	
310	2013	男	院内感染(冷却塔)	確定	3124	<i>L. pneumophila</i>	1	23	2	3	9	10	2	1	6	S1	国内20例目、国外	
311	2014	男	公衆浴場(溺水、3132と同一患者)		3131	<i>L. dumoffii</i>												
312	2014	男	公衆浴場(溺水、3131と同一患者)	確定	3132	<i>L. pneumophila</i>	1	1696	6	10	17	3	9	14	3	(B1)	無	
313	2014	男	温泉(推定、転倒し、溺水、3155と同一患者)		3154	<i>L. pneumophila</i>	3	1712	27	3	9	12	2	1	6	-	無	
314	2014	男	温泉(推定、転倒し、溺水、3154と同一患者)		3155	<i>L. pneumophila</i>	14	1638	2	3	6	10	51	1	218	-	国外1例	
315	2014	男	不明		3157	<i>L. pneumophila</i>	1	328	6	10	19	28	19	4	9	B1	国外(臨床1例環境多)	
316	2014	男	不明(運転手)		3158	<i>L. pneumophila</i>	1	1726	21	14	29	1	15	29	206	N	無	
317	2013	男	入浴施設(推定)		3159	<i>L. pneumophila</i>	1	1186	2	3	5	3	2	1	9	S1	国内環境(水たまり)1例	
318	2013	男	温泉(推定)		3160	<i>L. pneumophila</i>	1	1730	2	6	17	6	8	8	9	(B1)	無	
319	2013	男	不明		3161	<i>L. pneumophila</i>	1	1722	2	3	6	50	51	1	9	S1	無	
320	2013	男	不明(餅物加工)		3162	<i>L. pneumophila</i>	1	1205	2	3	18	10	2	1	10	S1	国内環境(水たまり)1例	
321	2013	男	不明(警備員)		3163	<i>L. pneumophila</i>	1	256	6	10	14	5	39	14	9	(B1)	国内3例目、国外、国内環境(シャワー)	

表 2 収集臨床分離株の内訳

2014年3月末日現在

*L. pneumophila* 308株 (97.5%)

*L. dumoffii* 1株 (0.3%)

SG1 262株 (82.9%)

*L. feeleii* 1株 (0.3%)

SG2 7株 (2.2%)

*L. londiniensis* 1株 (0.3%)

SG3 13株 (4.1%)

*L. longbeachae* 4株 (1.3%)

SG4 2株 (0.6%)

*L. rubrilucens* 1株 (0.3%)

SG5 7株 (2.2%)

SG6 7株 (2.2%)

SG9 3株 (0.9%)

SG10 2株 (0.6%)

SG12 2株 (0.6%)

SG14 1株 (0.3%)

SG15 1株 (0.3%)

Untypable\* 1株 (0.3%)

計 316株 (100%)

\*デンカ生研レジオネラ免疫血清ニューモフィラ 1-15 群のいずれにも反応しなかった。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）  
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班  
分担研究報告書

地方衛生研究所検査室の機能・病原体マニュアル編集

研究分担者 調 恒明（山口県環境保健センター）

研究要旨 平成26年9月19日付けで、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症及び薬剤耐性アシネトバクター感染症が全数把握疾患となり、感染症発生動向調査事業において病原体検査対象疾患となったことから地方衛生研究所における検査依頼が増加することが考えられた。特にCREについては、薬剤耐性の表現型だけでは確定が困難であり、PCR法によるIMP遺伝子の検出が必要である。このため地方衛生研究所に薬剤耐性菌検査技術の普及の必要性を認め、各支部に1施設のレファレンスセンターを設置し、レファレンスセンターの地方衛生研究所の検査担当者は国立感染症研究所において研修をうけた。

A. 研究目的 2014年2月に大阪市内の医療機関において100例を超えるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症もしくは保菌者の大規模なアウトブレイクが報告された。1 この事例では、カルバペネムを含む複数の抗菌薬に耐性を示すメタロ-β-ラクタマーゼ（Metallo-β-lactamase: MBL）産生腸内細菌科細菌（MBL-Ent）の *Klebsiella pneumoniae* が分離された。メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子は伝達性の高いプラスミド上にあり、腸内細菌科細菌の間で種を超えて広がっていく。このプラスミドによる耐性機構は2009年に広島大学で初めて発見され、今回の事例報告により西日本に広がっている可能性が懸念されている。分離された耐性菌は、イミペネムに耐性を示さないため通常の検査では検出されにくく、プラスミド上の耐性遺伝子が菌種を超えて水平伝達する。また、通常の院内感染とは異なり、必ずしも

同一菌種から検出されるとは限らないことからカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の中でも特にアウトブレイク探知が困難である。カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症については、平成26年9月19日から全ての医療機関で届出が必要となった。ところが実際には届け出基準に合致した細菌であっても、問題となっているプラスミドによる耐性であるかは判断できない場合が多く、薬剤耐性の原因遺伝子であるIMP遺伝子をPCR法により検出する必要がある。PCR検査は一般の医療機関では行われておらず、地方衛生研究所における検査依頼が増加することが予想された。薬剤耐性菌の検査はこれまで地方衛生研究所において経験が少な分野でありレファレンスセンターの新たな設置が必要であると判断された。

B. 研究方法 薬剤耐性レファレンスセン

ター（仮称）の設置については、国立感染症研究所の渡邊治雄所長、宮崎義継レファレンス委員長、薬剤耐性菌の調査研究を担当している柴山恵吾細菌第二部長の了解を得た。また、地方衛生研究所全国協議会のレファレンス委員の了解を得ている。正式には平成 27 年度の全国衛生微生物技術協議会レファレンス委員会において承認される必要がある。レファレンスセンターの設置により、地方衛生研究所における薬剤耐性菌検査の対応が強化される事が期待される。レファレンスセンターは、PCR 用の陽性コントロールの配布、支部における技術的支援の役割を担うこと等が想定される。

C. 結果と考察 各支部のレファレンスセンターは以下の通りである。

北海道東北：秋田県健康環境センター  
関東甲信静：横浜市衛生研究所  
東海北陸：愛知県衛生研究所  
近畿：大阪府立公衆衛生研究所  
中国四国：香川県環境保健研究センター  
九州：福岡県保健環境研究所

今回の CRE の検査では、ディスク拡散法による薬剤耐性パターンの確認と PCR 法による Inc N、CTX-M-2、IMP-6（IMP 遺伝子を増幅後に遺伝子配列を確認する必要がある）の各遺伝子の同定が必要となることから国立感染症研究所において技術的研修と陽性コントロールの配布を目的とした 3 日間の研修が 4 回にわたって行われた。今年度、研修に参加した地方衛生研究所は、広島県立総合技術研究所保健環境センター、香川県

環境保健研究センター、岡山県環境保健センター、川崎市健康安全研究所、相模原市衛生研究所、高知県衛生研究所、広島市衛生研究所、山口県環境保健センター、徳島県立保健製薬環境センター、愛媛県立衛生環境研究所、横須賀市健康安全科学センター、名古屋市衛生研究所、茨城県衛生研究所、千葉市環境保健研究所、神戸市環境保健研究所、兵庫県立健康科学生活科学研究所、福岡県保健環境研究所、埼玉県衛生研究所の 19 カ所である。レファレンスセンター設置後に行われた 4 回目の研修はレファレンスセンターの地方衛生研究所を優先して行われた。

#### D. 結論

今回、新たな薬剤耐性菌に対する検査対応が求められるようになったことから、レファレンスセンターを設置し研修をおこない、全国における検査体制の強化が図られた。

#### E. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

国際学会

なし

国内学会

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）  
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班  
平成26年度分担研究報告書

カンピロバクターの型別方法の検討と分離菌株の特徴

研究分担者	甲斐 明美	東京都健康安全研究センター
研究協力者	横山 敬子	東京都健康安全研究センター
	今野 貴之	秋田県健康環境センター
	山田 和弘	愛知県衛生研究所
	田口 真澄	大阪府立公衆衛生研究所
	田内 敦子	広島市衛生研究所
	野村 恭晴	山口県環境保健センター
	福司山郁恵	熊本県保健環境科学研究所
	五十君静信	国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨 7ヶ所のカンピロバクターレファレンス支部センターで、2013年に散发下痢症患者から分離された *C. jejuni* 337株についてLior法およびPenner法による血清型別を実施した。Lior法では337株中259株（76.9%）、Penner法では336株中175株（52.1%）が型別された。マルチプレックスPCR法によるPenner型別法を検討した。市販のPenner血清25種類のうち10血清群についてマルチプレックスPCR法による型別が可能となった。2013年分離株のキノロン耐性率は、*C. jejuni* では43.6%、*C. coli*では62.5%であった。EM耐性率は*C. jejuni* では1.2%、*C. coli*では18.8%であった。

A. 研究目的

カンピロバクターレファレンス・サービスを開始した1989年以降実施しているLior法（自家調製血清による型別）およびPenner法（市販血清を用いた型別）による *Campyrobacter jejuni* 分離菌株の型別状況調査を行い、両方法の型別率を比較した。また、Penner法による型別を、PCR法を用いて遺伝子学的に型別する方法について検討した。さらに、薬剤耐性菌の出現状況についても併せて調査した。

B. 研究方法

1. カンピロバクター血清型別レファレンス・サービス支部センター  
支部センターおよびその所管地区は以下のとおりである。北海道・東北・新潟地区：秋田県健康環境センター、関東・甲・信・静地区：東京都健康安全研究センター、東海・北陸地区：愛知県衛生研究所、近畿地区：大阪府立公衆衛生研究所、中国・四国地区：山口県環境保健センター（広島県を除く中国地方）広島市衛生研究所（広島県及び四国地方）、九州地区：熊本県保健環境

科学研究所

## 2. Lior 法及び Penner 法による血清型別

各支部センターで分離された *Campylobacter jejuni* を対象に、自家調製血清を用いた Lior 法による型別、及び市販血清（デンカ生研）を用いた Penner 法による型別を行った。各方法の概要は表 1 に示した。

## 3. PCR 法による型別法の検討

Penner 血清型別を遺伝子レベルで型別するマルチプレックス PCR 法を検討した。供試菌株は、市販 Penner 血清 25 種類のうち 10 血清群の血清型別用レファレンス株 (serostrain) 14 株である。その内訳は、A 群 (HS1, HS44), B 群 (HS2), C 群 (HS3), D 群 (HS4, HS13, HS50), F 群 (HS6), G 群 (HS8), I 群 (HS10), L 群 (HS15), R 群 (HS23/36, HS53) および Z2 群 (HS41) である。プライマーは、Poly, F., et al. の方法 (JCM 49:1750-1757, 2011) に従った。PCR 条件は、図 1 に示した。

## 4. 薬剤耐性菌出現状況の把握

エリスロマイシン (EM), ナリジクス酸 (NA), ノルフロキサシン (NFLX), オフロキサシン (OFLX), シプロフロキサシン (CPFX) の 5 薬剤を供試し、米国臨床検査標準化委員会 (CLSI) の方法に従い、センシディスク (BD) を用いた KB 法で薬剤感受性を調べた。

## C. 研究結果

### 1. Lior 法および Penner 法による血清型別

2013 年に本レファレンスセンターで散发下痢症患者から分離された *C. jejuni* 337 株の Lior 法による型別成績をまとめた。最

も多く検出された血清型は LIO 4 (31.2%), 続いて LIO 1 (9.2%), TCK 1 (3.9%), LIO 10 (3.3%) であった (表 2)。

次に、2013 年に分離された 336 株について、Penner 法で型別を行った。最も多く検出されたのは、昨年度と同様に B 群 74 株 (22.0%), 次いで D 群 23 株 (6.8%), L 群 22 株 (6.5%) であった。UT 株は、161 株 (47.9%) で、2012 年の 50.0% よりやや低くなったが、依然として型別不能株の割合は高い状況であった (表 3)。

## 2. PCR 法による型別法の検討

Penner 血清型別用レファレンス株 (serostrain) から DNA をアルカリ熱抽出し PCR を実施した。今回検討した 10 血清群 14 菌株については、HS53 を除き型別が可能であった (図 1)。HS53 については、既報のプライマーでは増幅が認められなかったため、さらに検討が必要である。マルチプレックス PCR 条件を検討し、4 回の PCR をかけることで、10 種血清群の型別が可能となった。

## 3. 薬剤耐性菌出現状況の把握

2013 年分離の *C. jejuni* のキノロン耐性株 (NA, NFLX, OFLX, CPFX) の割合は、43.6% で、昨年の 47.7% に比べ若干耐性割合は低下した。*C. coli* では、その 62.5% がキノロン耐性株であった。

一方、カンピロバクター下痢症の治療のための第一選択薬として推奨されている EM に対する耐性率は *C. jejuni* で 1.2%, *C. coli* で 18.8% であり、増加傾向は認められなかった (図 2, 3)。

## D. 考察

近年、*C. jejuni* の血清型別率が低下して

いる。特に、Penner 法においては、ほぼ半数が型別できない状況である。そこで、マルチプレックス PCR による Penner 血清型別の検討を行った。今回検討に用いた serostrain では、HS53 を除き PCR 法による型別が可能であった。今後、臨床分離株を用いて検討を行い、実用性に対する評価を行う予定である。また、UT 株を解析し、血清の追加を考えることも必要かもしれない。

一方、PCR 法による型別は、操作性の煩雑さから、多数検体を処理する日常のルーチン検査での実用化が現実的か否かについては、さらに検討が必要である。また、今回検討した 10 血清群以外の血清型の型別法については、今後の課題である。

昨年度の本研究において、型別不能株の増加の一因に、市販血清の力価が弱いことがあるのではないかと推察した。そこで、市販血清の 2 倍の力価の血清で型別を実施したが、型別率の上昇は認められなかった。

今後、遺伝子および抗原成分の両側面から検討を行い、型別率を上げていくことが重要であると考えている。

#### E. 結論

2013 年にヒトから分離された *C. jejuni* 337 株について血清型別を実施したところ、Lior 法では 76.9%、Penner 法では 52.1% の型別率であり、依然として Penner 法の型別率が低い傾向であった。PCR による型別法は引き続き検討していく必要がある。

薬剤耐性株の出現状況を調査した結果、キノロン系薬剤、EM とともに例年とほぼ同様に高い耐性率であった。

#### F. 健康危険情報

*C. jejuni* のキノロン系薬剤に対する耐

性株の割合は 43.6%、*C. coli* では 62.5%で、非常に高い状態が続いている。カンピロバクター下痢症の治療のための第一選択薬として推奨されている EM に対する耐性率は *C. jejuni* で 1.2%、*C. coli* で 18.8%である。薬剤耐性菌の出現状況について注視する必要がある。

#### G. 研究発表

カンピロバクターレファレンスセンター報告：

[http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H26\\_Campyrobacter.pdf](http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H26_Campyrobacter.pdf)

論文発表 準備中

学会発表

国際学会 なし

国内学会

横山敬子：ヒト由来カンピロバクターの薬剤耐性状況の変遷，第 7 回日本カンピロバクター研究会，2014 年 12 月，東京。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許取得

なし

実用新案登録

なし

その他

なし



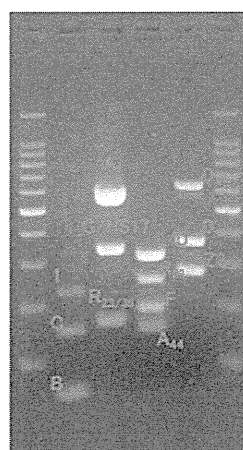
表1. カンピロバクターの血清型別法

	Lior 法 自家調製	Penner 法 市販品(デンカ生研)
方法	スライド凝集反応	受身血球凝集反応
標的抗原	易熱性抗原 (H, K様抗原?)	耐熱性菌体抗原 (LOS)
血清群数	30(原法:118)	25(原法:57)
操作性	容易	煩雑
判定	やや困難	容易
価格	安価	高価(1検体 2000円)

PCR 条件

10 X Ex-taq buffer	2.5 μl
2.5mM dNTP	2 μl
50 x Primer mix	0.5 μl
Ex-taq Hot-start	0.125μl
Template DNA	2 μl
DW	17.875μl
	25 μl

	94°C	1min
35cycles	94°C	30sec
	56°C	60sec
	72°C	90sec
	72°C	5min



3% agarose gel 100V 40min

図1. マルチプレックスPCRによる Penner 型別法の検討

表2. *C. jejuni* 散発事例由来株のLior血清型別成績  
(全国・2013年)

血清型	秋田	東京	愛知	大阪	広島	山口	熊本	合計	(%)
LIO 4	13	16	11	15	44	5	1	105	31.2
LIO 1	1	8	1	-	15	6	-	31	9.2
TCK 1	-	4	2	-	7	-	-	13	3.9
LIO 10	1	5	3	1	-	1	-	11	3.3
LIO 11	-	3	3	-	4	-	-	10	3.0
LIO36	-	6	-	-	-	1	-	7	2.1
その他*	4	20	6	5	5	4	-	44	13.1
小計	19	62	26	21	75	17	1	221	65.6
(%)	55.9	72.9	60.5	58.3	65.8	70.8	100.0	71.0	
複数血清	6	-	7	-	25	-	-	38	11.3
型別不能	9	23	10	15	14	7	-	78	23.1
合計	34	85	43	36	114	24	1	337	100

\* 20種類

表3. *C. jejuni* 散発事例由来株のPenner血清型別成績  
(全国・2013年)

血清型	秋田	東京	愛知	大阪	広島	山口	熊本	合計	(%)
B群	10	9	5	11	37	1	1	74	(22.0)
D群	3	11	2	4	3	0	0	23	(6.8)
L群	0	7	6	1	8	0	0	22	(6.5)
C群	0	8	0	1	2	0	0	11	(3.3)
A群	2	3	0	1	1	3	0	10	(3.0)
その他*	8	7	4	5	8	0	0	32	(9.5)
小計	23	45	17	23	59	4	1	172	(51.2)
(%)	(67.6)	(53.6)	(39.5)	(63.9)	(51.8)	(16.7)	(100)	(51.2)	
複数血清	2	1	0	0	0	0	0	3	(0.9)
型別不能	9	38	26	13	55	20	0	161	(47.9)
合計	34	84	43	36	114	24	1	336	(100)

\*11種類

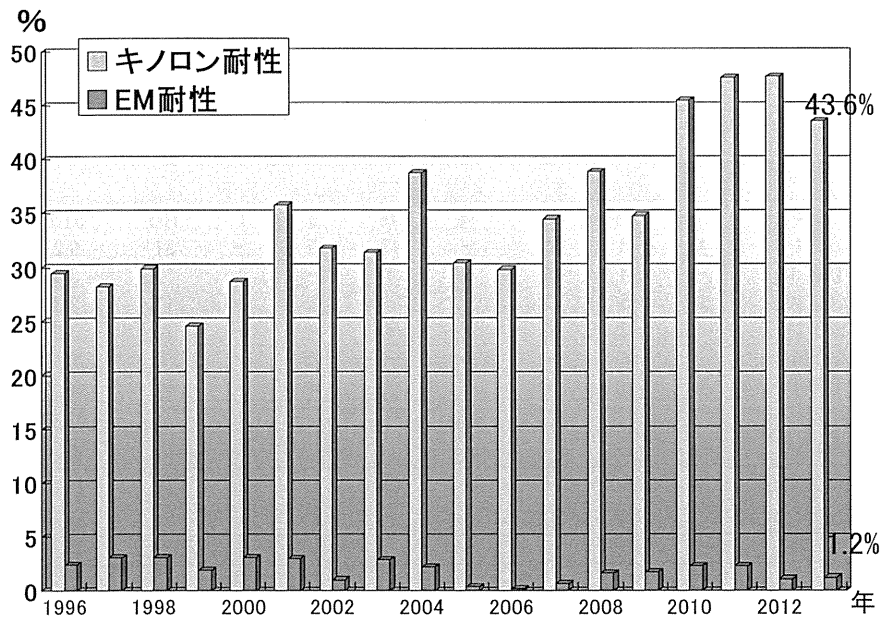


図2. *C. jejuni* キノロン剤およびエリスロマイシン耐性株の出現状況  
キノロン耐性: NFLX・OFLX・CPFX・NA耐性

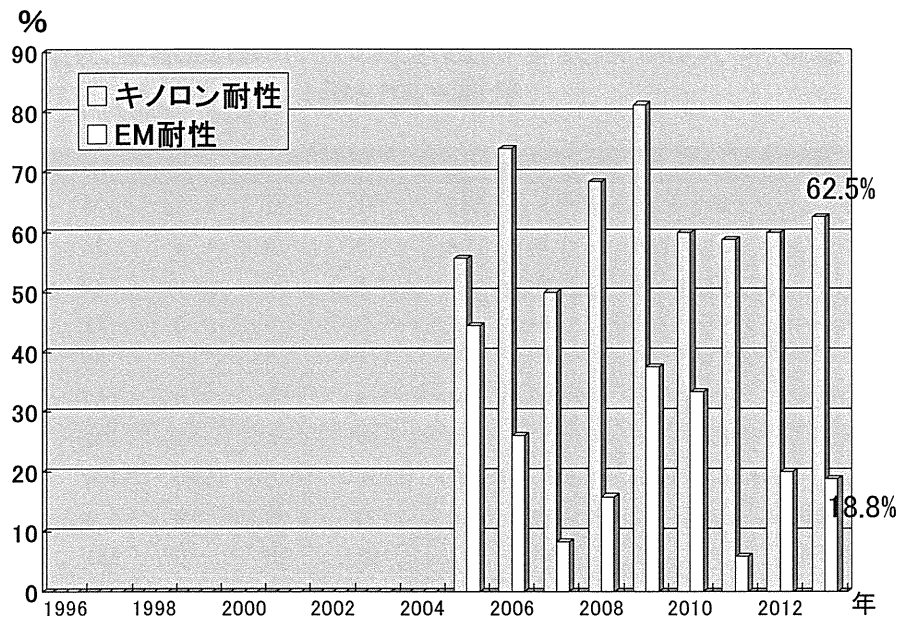


図3. *C. coli* キノロン剤およびエリスロマイシン耐性株の出現状況  
キノロン耐性: NFLX・OFLX・CPFX・NA耐性

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）  
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班  
分担研究報告書

分担研究課題 寄生虫症に関するサーベイランス強化に関する研究

研究分担者	野崎智義	国立感染症研究所寄生動物部	部長
研究協力者	杉山 広	国立感染症研究所寄生動物部	第2室長
同	八木田健司	国立感染症研究所寄生動物部	主任研究官
同	森嶋康之	国立感染症研究所寄生動物部	主任研究官

**研究要旨** 感染症法で第四類に分類されるエキノコックス症について、国内における検査ネットワークの強化に関連する研究を進めた。まずエキノコックスについては、地方衛生研究所等と連携してヒトおよびイヌなどの動物の疑診例に関する依頼検査を実施し、流行ならびに拡散に関する情報収集を目指した。この一連の検討において、愛知県内で捕獲されたイヌに道外第2例目となるエキノコックス感染例が発見され、愛知県衛生研究所と共同で流行調査を開始した。併せて食品媒介寄生虫症であるクドアと肺吸虫に関しても、地方衛生研究所等との検討・研究に取り組んだ。

#### A. 研究目的

感染症法において寄生虫症は5つの病原体（類）を原因とする疾病が規定される。このうちエキノコックス症（多包性と単包性）は四類に分類され、ヒトおよびイヌの感染例について、それぞれ診断した医師もしくは獣医師が届出の義務を負う。我が国に土着するエキノコックスは、多包性の原因種である多包条虫 *Echinococcus multilocularis* であるが、分布は北海道に限局する。そのため北海道外の都府県におけるイヌの感染例は、2005年の埼玉県での発見以降、届出がなかった。ところが、2014年4月に愛知県内で捕獲されたイヌから本虫の虫卵が検出され、この道外第2例目の発見に端を発して、愛知県衛生研究所との間で相互研修および共同研究を実施し、ラボネットワークの強化に係わる作業を進めた。

食品媒介寄生虫症もまた、地方衛生研究所（以下、地研と略）との間でラボネットワークの強化に取り組むべき重要な課題である。今年度はクドアと肺吸虫に関して検討を進めた。

#### B. 研究方法

##### 1. エキノコックス症

当部では全国各地の地研または国内外の医療機関からエキノコックス症をはじめとする寄生虫症の依頼検査を受け付けている。昨年度の報告以降、平成26年1月末までに計98件の依頼があり、このうちエキノコックス症を疑う新規の依頼はヒトで2件、動物で5件の計7件であった。なおヒト由来材料に関しては、昨年度報告した単包性エキノコックス症の術後フォローアップ分として、さらに5件の検査も引き受けた。検査にあたりヒトの場合は、血清を材料とし

てウエスタンブロット法による血清検査を行った。動物の疑い例の場合は、糞便（イヌ）もしくは臓器（ネズミ）を材料として、虫卵検査もしくは肉眼検査（さらに病理組織学的検査）を実施した。

## 2. クドア感染症

本症はナナホシクドア *Kudoa septempunctata* を病原体とする一過性下痢症で、ヒラメが原因食品の場合は食中毒として届け出るように、2011年6月17日に厚労省から通知が発出された。届出には、喫食残品におけるクドアの存在を顕微鏡下に確認することと通知に記載されている（遺伝子検査を補助的に用いる）。一方で2014年5月26日に、「食中毒患者便からの *Kudoa septempunctata* 遺伝子検出法（参考）について」との事務連絡が厚労省から都道府県等に発出された。この結果、患者便からの遺伝子検出が果たしてクドア食中毒の届出基準として有効なのか、地研の間に見解の相違が生じた。さらにヒラメ以外の魚種（カワハギ）からのナナホシクドアの検出（これを喫食しての人体症例は未報告）、あるいはナナホシクドア以外のクドア属寄生虫に起因する一過性下痢症の発生が報告されるようになった。これら関連の情報を共有・整理することを目的に、クドア食中毒の研究を進める地研（大阪府公衆衛生研究所および東京都健康安全研究センター）と国研（感染研および国立医薬品食品衛生研究所）の担当者が集まり、厚労省の担当者も交えて情報交換を行った。またその議論の内容をレファレンスセンター会議（2014年6月26日）で公開し、他の地研の担当者にも周知を図った。

## 3. 肺吸虫症

鳥獣保護法が昨年一部改正され、野生鳥獣肉の消費量増加が予想されることから、食品としての衛生管理の強化が必要となった。強化が必要な一つの事例として、例えばイノシシは我が国の代表的な野生鳥獣の一つであるが、九州南部ではその肉を加熱なしで喫食し肺吸虫症の患者が続発しているとの事実を取り上げることができる。このような事例が認められるにもかかわらず、イノシシは「と畜場法」の対象外であるために、寄生虫等病原体による汚染の実態は、ほとんど把握されていない。そこで、肺吸虫を対象とするイノシシ肉の検査に鹿児島県環境保健センターと取り組んだ。

## C. 研究結果

### 1. エキノコックス症

ヒトの疑診例2例は抗体検査陽性で、多包性エキノコックス症と診断され、いずれも北海道との関連が認められた（1例は居住者、もう1例は旅行歴保有者）。単包性エキノコックス症フォローアップ分では、抗体応答の低下は認められたが完全消失せず、化学療法剤（アルベンダゾール）投与とCTによるモニター継続が決定された。動物の疑診例5例のうち、ネズミ由来検体（1例）は陰性であったが、イヌ由来検体（4例）の1例が陽性であった。この陽性検体は、愛知県内の動物保護管理センター抑留個体の寄生虫調査を行っていた開業獣医師から大学獣医学部を経由して依頼されたもので、当部で実施した確定診断の結果に基づき、イヌのエキノコックス症として所管の半田保健所に届出がなされた。この結果を受けて、愛知県衛生研究所と協議し、診断技術研修を行うと同時に、共同で同県動物保護

管理センターに抑留されるイヌのエキノコックス調査を開始した。さらに、上記届出とその後の報道に付随して、消化管内寄生蠕虫検査 (MGL 法) の詳細に関する問い合わせが増加したため、病原体検出マニュアル収載の同検査法について、改訂を行って対応した。

## 2. クドア感染症

厚労省担当者との情報交換により、食中毒患者便からのナナホシクドア遺伝子検出法はあくまでも参考であり、届出は従来通り、患者の喫食残品におけるクドアの存在を顕微鏡下に確認することに基づくと確認された。またナナホシクドア以外のクドア属寄生虫に起因する一過性下痢症は、現時点では有症苦情として取り扱い、食中毒として取り扱うかは喫緊の課題として厚生労働省 (監視安全課) で更に検討することになった。ヒラメ以外の魚種 (カワハギ) から検出されるナナホシクドア以外のクドアに関しては、地研と国研とでさらに検討を進め、一層の情報交換を図ることになった。

## 3. 肺吸虫症

検査したイノシン 7 頭のうち、3 頭から肺吸虫の幼若虫が検出され、遺伝子検査を行った。その結果、幼若虫はいずれもウエステルマン肺吸虫 (人体寄生性の肺吸虫種) と種同定された。イノシン肉における肺吸虫汚染は極めて濃厚で、例えば 215g の筋肉に 8 隻もの肺吸虫の幼若虫が寄生する個体も認めた (平均すると約 30g の筋肉に 1 隻の寄生)。鹿児島衛研とは更にこの問題で共同研究と相互研修を進め、また隣接する自治体の地研にも呼び掛けて、虫体検出法や検出虫体の遺伝子検査に関する技術研修を

実施すると共に、野生鳥獣の処理施設や猟友会への啓発活動に取り組む予定になっている。

## D. 考察

わが国で発生するエキノコックス症は、常在地である北海道を除き、いずれも域外で感染して持ち込まれた非原発性症例と考えられていた。今年度発見されたヒトの多包性エキノコックス症例のうちの道外例 1 例も北海道旅行歴を有し、同地での感染が示唆された。しかし今回、2005 年の埼玉県での届出に続き、ヒトへの直接の感染源となるイヌの感染例が発見されたことによって、上述のような旅行歴、さらに居住歴などの情報だけから感染地を推定することが困難となってきた。ヒトのエキノコックス症の診断は曝露後相当年を経過してから実施されるのが一般的で、このためヒト症例の解析のみでは十分な監視体制が敷かれているとは言いがたい。エキノコックス症流行地の拡大が懸念されることから、新たな監視体制の構築が必要となっている。

食品寄生虫に関する地研とのラボネットワークの強化も、感染症・食中毒の枠を超えて、継続的に取り組むべき課題である。そのために情報交換と相互研修がまず重要であると考えられた。

## E. 結論

エキノコックス症に関する監視体制は十分と言えず、地研や保健所、医療機関等への情報提供を行って体制整備を図る必要がある。また本症伝播に重要な役割を果たすと考えられるイヌなどの終宿主動物に関しては、これを対象とした簡易な検査方法の開発と普及が必要である。さらに食品寄生

虫に関する地研とのラボネットワークの強化も、感染症・食中毒の枠を超えて、継続的に取り組むべき課題である。情報交換と相互研修がまず重要である。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

誌上発表

1. 登丸優子, 福本真一郎, 森嶋康之. 本州以南第二例目の届出となった犬のエキノコックス(多包条虫)症 — 愛知県. 病原微生物検出情報35, 183.
2. 田中照久, 平田哲生, 東新川実和, 岸本一人, 外間 昭, 金城福則, 林 裕樹, 尾下陽大, 石野信一郎, 白石祐之, 西巻 正, 森嶋康之, 杉山 広, 山崎 浩, 藤田次郎. ネパール人留学生の単包虫症の1例. *Clinical Parasitology* 25, 77-79.
3. 森嶋康之, 市村静江, 山崎 浩, 杉山 広: ネパール人の単包虫症. *Echinococcus ortleppi*の心寄生例. *Clinical Parasitology* 25, 99-101.
4. 杉山 広, 柴田勝優, 荒川京子, 森嶋康之, 山崎 浩, 御供田睦代, 岩切忠文, 福盛順子. 猪肉の生食を原因に発生が続く肺吸虫症: 鹿児島県産猪の筋肉における本虫の寄生状況調査. 病原微生物検出情報, 35, 248, 2014.
5. 杉山 広, 柴田勝優, 森嶋康之. 肺吸虫症. *臨床と微生物*, 41, 373-378, 2014.

学会発表

1. 田中照久, 平田哲生, 東新川実和, 岸

本一人, 外間 昭, 金城福則, 林 裕樹, 尾下陽大, 石野信一郎, 白石祐之, 西巻 正, 森嶋康之, 杉山 広, 山崎 浩, 藤田次郎: ネパール人留学生の単包虫症の1例. 第25回日本臨床寄生虫学会大会, 東京, 2014年6月.

2. 森嶋康之, 市村静江, 山崎 浩, 杉山 広, 北井 豪: ネパール人の単包虫症: *Echinococcus ortleppi*の心寄生例. 第25回日本臨床寄生虫学会大会, 東京, 2014年6月.
3. 福本真一郎, 登丸優子, 森嶋康之: 本州以南第2例目にあたる愛知県内の犬から検出された多包条虫虫卵. 第157回日本獣医学会学術集会, 札幌, 2014年9月.
4. 杉山 広, 柴田勝優, 荒川京子, 市村静江, 森嶋康之, 山崎 浩: イノシシ肉の生食を原因に発生が続く肺吸虫症に関する実態調査. 第157回日本獣医学会学術集会, 札幌, 2014年9月.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得	なし
実用新案登録	なし
その他	なし

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）  
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班  
分担研究報告書

クロストリジウム属菌およびコリネバクテリウム属菌による感染症のラボネットワークに  
ついて

研究分担者	加藤はる	国立感染症研究所	細菌第二部
研究協力者	岩城正昭	国立感染症研究所	細菌第二部
	山本明彦	国立感染症研究所	細菌第二部
	小宮貴子	国立感染症研究所	細菌第二部
	妹尾充敏	国立感染症研究所	細菌第二部
	福田千恵美	香川県環境保健研究センター	
	山田裕子	広島県立総合技術研究所	
	河合央博	岡山県環境保健センター	
	木村千鶴子	愛媛県立衛生環境研究所	

研究要旨

ボツリヌス症および*Clostridium difficile*感染症に関する講習会（座学および実習）を、地方衛生研究所を対象に行った。ボツリヌス診断用抗毒素D型およびG型の標準化作業を終了した。また、平成26年に発生した多剤耐性*Corynebacterium striatum*による院内アウトブレイク事例、および、*Clostridium difficile*による院内アウトブレイク事例を通して、医療機関、保健所、地方衛生研究所、民間検査センター、国立感染症研究所におけるネットワークについて検討した。

A. 研究目的

ボツリヌス症は、重篤な経過をとり、適切な細菌学的診断が必要であるとともに、食中毒の場合は特に公衆衛生学的に非常に重要な疾患である。しかしながら、稀少感染症であること、ボツリヌス毒素検出には動物実験が必要であることから、ボツリヌス症のレファレンスセンターであっても、検査ができない地方衛生研究所が少なくない。本研究では、レファレンスセンターを含めた地方衛生研究所で検査が行えることを目的に地方衛生研究所の研究者を対象にボツリヌス症の細菌学的検査法の講習会を開催した。

また、ボツリヌス毒素には、AからGまでの7型があるが、ボツリヌス診断用抗毒素C型、D型、G型が日本ではなかった。

そこで、これらを作製することを本研究の目的のひとつとした。

また、ボツリヌス菌以外の*Clostridium*属菌では、*Clostridium difficile*が医療関連感染の原因として重要であり、アウトブレイク事例や重症例に関して、保健所や地方衛生研究所への問い合わせが増加している。そのため、本研究では、地方衛生研究所を対象に*C. difficile*感染症(CDI)に関する講習会を行った。

一方、平成26年9月にある医療機関において*Corynebacterium*属菌による感染症の院内アウトブレイク、同年11月に別の医療機関においてCDIの院内アウトブレイクが発生した。アウトブレイクへの対応は、医療機関、保健所、地方衛生研究所、国立感染症研究所、さらに、民間検査センター



とのネットワークが重要であるが、事例を通して明らかになった問題点について検討した。

## B. 研究方法

### 1. ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

平成 26 年 11 月 19 日から 11 月 21 日まで、ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会を行った。マウス法によるボツリヌス毒素検出およびボツリヌス菌のコロニー観察を中心に講習を行った。

### 2. 診断用ボツリヌス抗毒素の標準化

化学及血清療法研究所（化血研）と大阪府立大学の協力を得て、C、D、G 型の抗毒素を製造した。本抗毒素について標準化作業を開始した。

### 3. *Clostridium difficile* 感染症(CDI)の細菌学的検査に関する研修会

平成 26 年 8 月 20 日-22 日、8 月 27 日-29 日、及び、10 月 1 日-3 日の 3 回に分けて、医療関連感染で重要な薬剤耐性菌の研修のなかで、座学と実習を行った。地方衛生研究所では、本感染症はなじみが薄い場合が多いため、まずどのような感染症であるかという概説、さらに検査法に関する座学、実習ではコロニー観察を主に行った。

### 4. アウトブレイク事例

#### ① *Corynebacterium* 属菌感染症によるアウトブレイク事例

平成 26 年 9 月、ある医療機関において、同一病棟入院の 4 患者の血液、創部浸出液、医療デバイス先端等から、続けて *Corynebacterium* 属菌が検出され、医療機関が同一 antibiogram を呈していることに気づき管轄の保健所に届けた。地方衛生研究所では、ジフテリア菌以外の *Corynebacterium* 属菌の検査については

経験がないという理由で、分離された 8 菌株については国立感染症研究所において行政検査を行うこととなった。国立感染症研究所は、行政検査を行うとともに、医療機関における細菌学的検査について、保健所および地方衛生研究所と情報共有しつつ、本医療機関および医療機関が細菌学的検査を外部委託している民間検査センターと、*Corynebacterium* 属菌の細菌学的検査に関する調査および対応策について検討した。

#### ② *Clostridium difficile* 感染症(CDI)によるアウトブレイク事例

平成 26 年 11 月、約 1 ヶ月間に約 20 例の CDI 発症があったと医療機関から管轄の保健所に届出が出された。*C. difficile* 菌株あるいは糞便検体が保存されているかどうかの情報が明確となる前に、地方衛生研究所から本アウトブレイク関連の検査は行わないという意思表示があった。保健所からの情報では本医療機関で CDI の細菌学的検査が適切に行われていないことが推測されたため、12 月初旬に保健所担当者とともに、医療機関を訪問し、職員を対象に勉強会を行った。

## C. 研究結果

### 1. ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

香川県環境保健研究センター、広島県立総合技術研究所、岡山県環境保健センターおよび愛媛県立衛生環境研究所より、計 4 名の参加があった。

### 2. 診断用ボツリヌス抗毒素の標準化

D 型および G 型の抗毒素の標準化は終了した。C 型について検討中である。

### 3. *Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査に関する研修会

平成 26 年 8 月 20 日-22 日には、広島県立総合技術研究所、香川県環境保健研究センター、岡山県環境保健センター、川崎市健康福祉局、相模原市衛生研究所；8 月 27 日-29 日には、高知県衛生研究所、広島市健康福祉局、山口県環境保健センター、徳島県立保健製薬環境センター、愛媛県立衛生環境研究所、横須賀市健康部健康安全科学センター；10 月 1 日-3 日には、名古屋市衛生研究所、茨城県衛生研究所、千葉市環境保健研究所、愛媛県立衛生環境研究所が参加した。参加者により、嫌気性菌学の経験や CDI に対する興味や関心に幅があった。

#### 4. アウトブレイク事例

##### ① *Corynebacterium* 属菌感染症によるアウトブレイク事例

4 患者から分離された 8 菌株は、*Corynebacterium striatum* と同定され、多剤耐性であった。本医療機関は細菌学的検査をすべて民間検査センターに外部委託しており、細菌学的検査に詳しいスタッフがいないため、情報の収集・整理に苦慮していた。そこで、医療機関、国立感染症研究所、および、検査委託している検査センターで協議し、検査センターで行っている *Corynebacterium* 属菌についての検査内容について整理し、検査センターに過去に検出された *Corynebacterium* 属菌のデータ提出を依頼した(図)。また、アウトブレイクの 4 患者において *Corynebacterium* 属菌による敗血症等に先行して吸引喀痰から *Corynebacterium* 属菌が分離されている記録から、上気道がリザーバーになっている可能性が示唆されたため、上気道における *C. striatum* のモニタリングができないか検討した。本検査センターでは、血液などの無菌的材料以外から分離された

*Corynebacterium* 属菌については、薬剤感受性試験は行わないシステムをとっていた。しかし、本アウトブレイクの原因となった *C. striatum* については特徴的なコロニーを呈することから、対象医療機関から提出された検体において、同様のコロニーが認められた場合は、検査材料に関わらず薬剤感受性試験を行うという提案が検査センターからなされ、実施された。

##### ② *Clostridium difficile* 感染症(CDI)によるアウトブレイク事例

保健所と国立感染症研究所により、聞き取り調査をしたところ、対象医療機関で、適切な細菌学的検査が行われていなかったことが判明した。そこで、検体採取から、検査依頼、検査の読み方まで、すべての検査ステップにおいて繰り返し指導が必要であった。保健所と国立感染症研究所の指導が入る前までは、民間検査センターに外部委託していた *C. difficile* 分離培養検査を医療機関の検査室で開始することにし、検査技師を技術指導するとともに、軌道に乗るまで、検査室と国立感染症研究所の両方で培養検査を行うことになった。本事例はまだ調査中であるが、地方衛生研究所はまったく関与していない。

#### D. 考察

*Clostridium* 属菌による感染症では、ボツリヌス症のように稀少感染症であるが重篤な疾患もあれば、*C. difficile* 感染症のように医療関連感染として多くの医療機関で問題となる感染症もある。ボツリヌス症に関しては地方衛生研究所がその重要性を認識しているため、検査の技術移転をすることにより、地方自治体における検査体制は整備されると考えられる。そのボツリヌス症であっても、医療機関から提出された検

体について検査を行うことだけに集中し、感染症例に関する情報を入手した上で、さらに必要な検査（たとえば、食餌性ボツリヌス症を疑うのであれば、食品の調査）を提案することが疎かになることが多い。提出された検体をどのように処理するかだけではなく、感染症として理解し対応することが今後重要であると思われた。

*C. difficile* 感染症は、いずれの医療機関においても認められる感染症であるが、ひとたびアウトブレイクが発生すると、その対応には困難を極める。近年、アウトブレイク事例について、医療機関から保健所に相談されることが増加し、地方衛生研究所にも、細菌学的検査のエキスパートとして相談が持ち込まれることが増えてきたが、対応は自治体により多様である。今回報告した CDI のアウトブレイク事例は非常に大きなアウトブレイクと考えられ、管轄している保健所はその公衆衛生学的重要性について認識し対応したものの、地方衛生研究所はまったく関わらなかった。本事例において、もっとも重要な点は、今後本医療機関が適切な細菌学的検査を行うことができるよう指導する点と考えられたが、実際には保健所だけによる指導は難しく、国立感染症研究所が支援するかたちとなった。保健所サイドはこのアウトブレイク事例を通して、理解と知識を蓄積しつつあるものの、関わらなかった地方衛生研究所は本感染症のネットワークには加わらないままとなった。

*Corynebacterium* 属菌についての検査に関して、地方衛生研究所ではジフテリア菌以外の検査はできないという理由により、行政検査となった。国立感染症研究所としても、*Corynebacterium* 属菌による医療関連感染事例対応に経験はなかったが、文献

を調べることにより解析を行った。本アウトブレイク事例においても、医療機関における細菌学的検査の充実は重要なポイントであった。細菌学的検査に関して理解を深め、民間検査センターに蓄積された過去の記録の情報提供を依頼、さらに、上気道キャリアの多剤耐性 *Corynebacterium* 属菌のモニタリングを行う工夫を行うなど、医療機関、国立感染症研究所、さらに、民間検査センターのネットワークがうまく機能した点が評価できた。地方衛生研究所においても、提出された菌株や検体の検査を行うだけでなく、細菌学的検査に関して医療機関に指導する能力が求められると考えられた。

#### E. 結論

地方衛生研究所において、提出された病原体や臨床検体において検査を行うだけではなく、その感染症を疾患として理解し、保健所、医療機関とともに対応にあたっていく姿勢が求められていると考えられた。また医療関連感染、特にアウトブレイク対応では、医療機関、保健所、地方衛生研究所、国立感染症研究所、さらに、（特に検査を外部委託している場合は）民間検査センターがネットワークを結び、対処することが重要と考えられた。

#### F. 健康危険情報

*Corynebacterium* 属菌は、無菌的検査材料から分離されても検体採取時あるいは培地への接種時のコンタミネーションと考えられがちであるため、今回経験した *Corynebacterium striatum* によるアウトブレイクは貴重な事例である。また、今回発生した *Clostridium difficile* 感染症事例は非常に大きなアウトブレイクであるにも

かかわらず、医療機関や自治体（地方衛生研究所）における危機感が低かったことは大きな問題と考えられた。

G. 研究発表

論文発表

該当なし

学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

特許取得

該当なし

実用新案登録

該当なし

図 *Corynebacterium striatum*感染症によるアウトブレイクへの対応

