## 感染症及び食中毒起因菌の汚染実態 に関する研究

エルシニア抗体価測定等による エルシニア感染症及び川崎病の研究 (2019年度~2021年度)

岡山県環境保健センター倫理審査委員会

令和 4年 3月 3日 於:岡山県環境保健センター第2会議室

## 研究の対象疾病とその起因菌

- ①エルシニア感染症
- エルシニア・シュードツベルクローシス (Y. pseudotuberculosis: 以下、Ypと略す)
- エルシニア・エンテロコリチカ (Y. enterocolitica: 以下、Yeと略す)
- ②川崎病

原因不明

## 研究の目的

- (1) 病原性のある Y. pseudotuber culos is の15血清群と、 Y. enterocoliticaの4血清型について、既存保存血清を 含めた患者などの血清抗体価を測定して、エルシニア 感染症の発生状況を把握し感染予防対策に資する。
- (2) 患者の抗体価測定結果、疫学情報、分離菌の性状等を解析し、感染源の究明や感染拡大の防止に役立てる。
- (3) 原因不明の川崎病について、エルシニア感染症との鑑別を 行って診断に役立てるとともに、エルシニア感染との関連性 を検討し、原因解明の一助とする。

## エルシニア感染症の症状

### (1) Yp感染症

乳幼児に多く、重篤で複雑多彩な症状を示す。 腹部症状、<u>発熱</u>、<u>発疹</u>に加え、関節痛、<u>眼球充血</u>、<u>苺舌</u>、 <u>落屑</u>、結節性紅斑、<u>リンパ節腫大</u>、感冒症状、肝腫大、 肺炎、急性腎不全などを発症する。

\*川崎病(乳幼児に多い)に類似した症状

#### (2) Ye感染症

小児に多く、発熱、下痢、嘔吐、腹痛などの胃腸炎症状を主とする。

## 現 況(1)

- ① エルシニア感染症の実態は不明であり、感染が疑われる患者 の多くが発症早期に近医で抗菌薬を投与されているため、患者 の検体から原因菌が分離される可能性は低く、感染の証明が難 しい。
- ② 川崎病は乳幼児に多く、小児科領域における重大な疾患で あるがその原因は不明で、Y.p感染症と類似した症状を呈する。 2013年~2019年の年間患者数は、全国で1万5千人を超えている。
- ③ エルシニア血清抗体価の検査は、本疾病の診断及び川崎病 との鑑別に有効な方法である。

## 研究の方法

研究デザイン

後ろ向き及び前向き観察研究

#### (1)研究対象者

- ①既存試料の患者(後ろ向き:同意手続は困難)
- ②エルシニア感染症疑い患者及びその家族など
- ③川崎病症状を呈する患者など

新たに小児科等の医師が抗体価測定などの検査を 依頼(前向き:同意手続済み)

## 現 況(2)

- ④ H25年度~27年度のエルシニア抗体価調査では、Yp抗体 陽性者は654名中98名(15%)で、川崎病症状患者グループ (10.9%)に比べエルシニア感染疑い患者グループ(18.5%)に に多く、当該調査では川崎病との関連性は見られなかった。
- ⑤ 平成28年度以降も全国の小児科等の医師から抗体価測定 の問い合わせが続いており、エルシニア感染症の継続発生 が危惧される。
- ⑥ 病原性のあるYpのうち、 5血清群(0:7,0:10,0:15,0:1c. 0:2c)の抗体価測定は未実施であり、これらの感染実態は 不明であるため、測定が必要である。
- ⑦ 以上から、本研究は科学的合理性及び倫理的妥当性を有 する。

## 研究の方法

- (2) 試料の収集(~2022.2.16)
  - ①研究対象者の検体
    - \*血清は採血した血液を遠心分離して得られる上部の透明な液体
    - 後ろ向き研究(既存試料分:試料は匿名化)

保存血清 44名 80検体 血清

1検体

133名 289検体 ・前向き研究 血清

1検体 便

5株 分離株

②患者宅で使用している井戸水 7検体

## 研究の方法

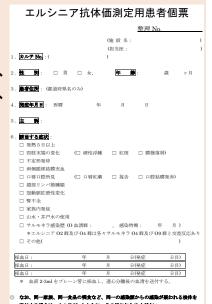
#### (3) 情報の収集

患者個票を使用。

施設名、担当医氏名、カルテNo、 性別、年齢、住所(<u>都道府県名</u>)、 発症年月日、症状、採血日、 サルモネラ感染履歴等。

情報は担当医師が記入。 試料、「同意書」、「試料・情報の提供に関する記録」ととも に、当センターへ送付する。

\* 匿名化により個人の特定は不可能。



## 研究の方法

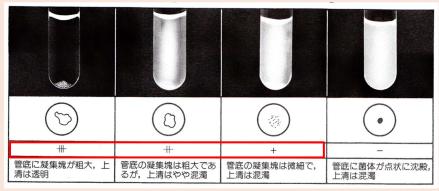
- (4) 検査方法
- (ア) 抗体価の測定
  - ・使用する抗原の調製

病原性のある<u>5血清群(0:7,0:10,0:15,0:1c,0:2c)</u>のYpの抗原を追加し、<u>15種類の加熱処理した抗原</u>を使用して、患者等の血清抗体価を測定する。

抗体価1:160以上を陽性とし、エルシニア感染の可能性が高いと判定する。

## 定量試験管凝集法による エルシニア抗体価の測定

反応量:加熱処理した菌体抗原液0.2ml + 患者血清0.2ml 患者血清はPBSで2倍階段希釈。50℃、2時間反応後、室温一夜 静置し、凝集+の終価(抗体価)を決める。



(図解臨床細菌検査: 坂崎利一編)

## 研究の方法

(イ) エルシニアの分離と同定

患者便や患者に関連する環境水等から菌の分離・ 同定を行う。

収集した菌株の血清群や病原性遺伝子の保有等を 検査する。

### (5) データベース化と解析

検査結果と患者情報をデータベース化する。 これを用いて<u>エルシニア感染症の発生状況</u>を解析し、 併せて<u>川崎病との関連性</u>を検討する。

## 研究における倫理的配慮

#### (1) インフォームド・コンセント及びアセント

試料・情報の収集時に、 担当医師が説明書により本調査 の主旨等について説明。

研究対象者あるいは代諾者(以下、<u>研究対象者等</u>という)の理解と研究協力への承諾を得る。

「感染症及び食中毒起因菌の汚染実態に関する研究」に
関する説明書
○ 説明書について
この説明書は「感染症及び食中毒の汚染実態に関する研究」のうち、エルシニア抗体
価測定等によるエルシニア感染症及び川崎病の研究について説明したものです。本研究
は、岡山県環境保健センター所長の許可を受けて実施しています。
(1) 研究実施責任者および担当者
研究実施責任者:岡山県環境保健センター 保健科学部 細菌科
特別研究員 狩屋 英明
研究実施担当者:岡山県環境保健センター 保健科学部 細菌科
研究員中嶋洋
(a) Transferre
(2) 研究実施場所 この研究は、岡山県環境保健センター保健科学部組菌科 (岡山市南区内尾 739-1)
この研究は、同山県環境保護センター保護科学部維固科 (同山市開区内地 739-1) で実施します。
ぐ央施します。
(3) 研究の背景
エルシニア威染症は、Y. pseudotuberculosis (エルシニア シュードツベルクローシ
ス:以下、「Yp」と言う)及び Y. enterocolitics (エルシニア エンテロコリチカ:
以下、「Ye」という)が引き起こす細菌感染症です。
<ol> <li>Yp 感染症は乳幼児に多く、以下のような重篤で複雑多彩な症状を示し、川崎病</li> </ol>
と類似した症状を示します。
(症状) 腹部症状、 <u>発熱、発疹</u> に加え、関節痛、 <u>眼球充血、苺舌、落層</u> 、
結節性紅斑、 <u>リンバ節腫大</u> 、感冒症状、肝腫大、肺炎、急性腎不全など。
[ <u>症状</u> :川崎病の類似症状]
2) Ye 感染症は小児に多く、発熱、下痢、嘔吐、腹痛などの胃腸炎症状を主とします。
エルシニア感染症の診断は、抗菌薬の早期投与などで細菌検査による原因菌の分離が難し い場合が多く、血清を用いたエルシニア抗体価測定が必要となっています。また、エルシ
ニア威染症と川崎病の鑑別にも抗体価の測定が役立っています。過去の調査で

## 研究における倫理的配慮

#### (3) 同意の取り消し

研究対象者等は、任意に 同意の取り消しが可能。

同意撤回書に署名後、担当 医師が当センターへ送付。

同意取り消しの場合は、試料 及び情報を適切・迅速に処理 後、廃棄。

によるエ	及び食中毒起因菌の汚染実態に関する ルシニア感染症及び川崎病の研究への を撤回し、ここに同意撤回書を提出し	参加に同意			
		西暦	年	月	ı
氏名	(武科等提供者本人または代諾者) (代諾者の場合本人との関係)			(自	筆)
住所	(都道府県名)				
本研究に	関する同意撤回の意志を確認したこと	を証します。			

(注) 同首権同事が提出された場合、患者の試料・情報等は適切に処理して廃棄されます

岡山県環境保健センター所長 殿

## 研究における倫理的配慮

## (2) 文書による同意

研究対象者等による承諾が 得られた場合のみ、同意書に 署名。

試料などと共に担当医師が 当センターへ送付。

岡山県環境保健センター所長 殿
私は、「感染症及び食中毒起因菌の再染実態に関する研究」のうちエルシニア核体価衡等によるエルシニア感染症及び川崎病の研究について、担当医師から別紙説明書に基づせ、次の事項について詳しい説明を受け、十分理解し納得できましたので、研究に協力することに固意します。 (説明事項の□の中にご自分でレを付けてください)
1.
西曆 年 月 日
氏 名 (本人または代語者) (自筆) (代語者の場合本人との関係) (化 所 (概測府県名)
本研究に関して、私が説明し同意が得られたことを証します。
説明者の氏名 (自筆) 施設名
カルテ No: ( )

## 研究における倫理的配慮

# (4)試料・情報の提供に関する手続き

担当医師が研究対象者等の 「試料・情報の提供に関する 記録」を作成。

原本は当該施設で3年間保管。

複写物は当センターへ送付。

#### 他の研究機関への試料・情報の提供に関する届出書(参考)

(施	設	長	名)		殿								
						報	告	者	BF	属			
									職	名			
									氏	名			印
35 6619	21-1	2143	x F A	たが物	b1 +	- tack 496-1	S. EH	de m	ar 467 ( - )	101-3-	ス細線。	1-16/13	144 66190

当施設における「人を対象とした医学系研究の実施に関する規程」に基づき、当施設で保有する既存試料及び新たに採取する試料・情報を、他の研究機関へ提供いたしますので、

□ 提供先機関の研究計画書
添付資料 □ 提供先機関の倫理審査委員会承認の証書
□ その他( )

	L COME (
1. 研究に関する事項	
研究課題	「感染症及び食中毒起因菌の汚染実態に関する研究」のうち エルシニア抗体価測定等によるエルシニア感染症及び川崎病 の研究
研究機関名	岡山県環境保健センター
予定研究機関	2019年4月1日~2022年3月31日
提供する試料・情報 の項目	試料名:血清(採取日: )、便(採取日: ) その他( :採取日 )( :採取日 ) 情報:エルシニア抗体価患者個票カルテ No( )
提供する試料・情報 の取得の経緯	エルシニア抗体価測定 ・ 川崎病との鑑別 菌の分離 ・ その他 ( )
提供方法	冷蔵便による輸送 岡山県環境保健センター 細菌科
研究責任者	職名:特別研究員 氏名: 狩屋 英明
2. 確認事項	
研究対象者の同意の 取得状況等	□ 文書によりインフォームド・コンセントを受けている (当該研究課題の内容説明書及び同意書による)
当施設における通知 又は公開の実施の有無	□ 実施しない (文書によるインフォームド・コンセントを受けるため)

## 研究における倫理的配慮

#### (5) 試料・情報等の保管及び廃棄の方法

① 試料の保管と廃棄

-80℃あるいは-30℃のフリーザーに保存。 フリーザー及び設置する部屋を<u>施錠管理</u>。 調査終了後5年以上保管。 廃棄の場合は、高圧蒸気滅菌処理で非感染性とする。

### ② 情報等の保管と廃棄

- ・<u>患者情報、試料・情報の提供に関する記録</u> 文書ロッカー中にファイルし、設置する部屋を<u>施錠管理</u>。 電子ファイルはパスワードを設定して外部からのアクセス を制限する。
- <u>同意文書、同意撤回書</u>
   匿名化を計るため、受付時に企画情報室で別途保管・管理。
   調査終了後5年以上保管。
   廃棄の場合は、細切処理で判読不能とする。

## 研究における倫理的配慮

- (8) 情報公開の方法
  - <mark>倫理審査の概要などの公開</mark>: 岡山県環境保健センターのホームページ内 (http://www.pref.okayama.jp/page/328695.html)
  - <mark>各年度の研究結果の公開</mark>: 岡山県環境保健センターのホームページ内の年報 (http://www.pref.okayama.jp/page/detail-113373.html)

公開に当たっては、個人が特定できないよう配慮する。

- (9) 研究対象者等からの相談への対応
  - 担当医師により対応。
  - 研究者も担当医師と協力して対応。

## 研究における倫理的配慮

- (6) 研究対象者に生じる負担・リスク及びこれらを最小化する対策
  - ・抗体価測定には研究対象者からの採血が必要だが 通常の採血であり、過度の負担やリスクはない。
  - ・負担軽減のため、<mark>初期診療時の血清</mark>を急性期血清 として使用可能。

#### (7) 研究実施状況の報告

2019年4月~2022年3月の3年間、検査を継続実施。

- <u>実施状況</u>や成果:年度毎の<u>調査研究ヒアリング(依頼施設名・</u> 依頼者名を含む) 及び<u>年報で報告。学会</u>や<u>論文</u>発表。
- ・3年間のまとめ:研究終了後に倫理委員会に報告。
- \*報告においては個人が特定できないよう配慮する。

## エルシニア抗体等調査結果

(2019年度~2022. 2. 16)

### (1)エルシニア抗体陽性率

YpあるいはYeの1種類の血清群抗原に対して、 抗体が陽性(抗体価 1:160以上)の者

Yp:151名中 56名(37.1%) Ye:54名中 6名(11.1%)

- \*複数の血清型陽性分及び判定不能分を除く
- \*\*患者数 (Yp及びYeとも検査実施による重複あり)

## エルシニア抗体等調査結果

(2019年度~2022. 2. 16)

#### (2) Yp感染症と川崎病との鑑別

Yp抗体価測定者151名について、川崎病症状のグループと Yp感染疑いのグループでYp抗体の陽性率を比較した。

抗体	川崎病症状	Yp感染症疑い	計
陽性	17	39	56
患者数	34	117	151
陽性率	50.0%	33.3%	37.1%

〇川崎病症状のグループがYp感染疑いのグループに比べ 抗体陽性率が高かったが、有意差は見られなかった(p>0.05)。

さらに川崎病症状の患者数を増やして検討する必要がある。

### エルシニア抗体等調査結果

(2019年度~2022.2.16)

#### (4) 月別Yp抗体陽性率

月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計
Yp抗体 陽性者数	9	7	6	3	6	6	4	3	5	3	1	3	56
患者数	17	15	11	13	17	18	13	11	13	9	4	10	151
%	52.9	46.7	54.5	23.1	35.3	33.3	30.8	27.3	38.5	33.3	25.0	30.0	37.1

- Yp抗体陽性者は年間を通じて出ており、平均陽性率は 37.1%であった。特に1月~3月の冬季は50%前後の高い陽性率 であり、主に気温の低い時期での発生が多いとされるYp感染症 の発生状況と一致していた。
- ◎ 以上、今回の調査では、有意差は見られなかったものの、 川崎病症状の患者が比較的高いYp抗体陽性率を示したので、 Yp感染と川崎病との関連については、さらにデータの集積が 必要と思われた。

#### (3) Yp抗体と症状

147

Yp抗体価測定者151名のうち、抗体陽性と陰性のグループに分けて、症状等の特徴を比較した。

11)	、ル	八寺り	ノイ寸は	メゼル	状しん	-0					
抗体	症	状	発熱	皮疹	発疹	嘔吐	下痢	腹痛			
陽性	患者数	56	51	5	9	8	17	16			
	発症率	100	91.1	8.9	16.1	14.3	30.4	28.6			
陰性	患者数	95	76	5	14	21	30	47			
医江	発症率	100	80.0	5.3	14.7	22.1	31.6	49.5			
	有意水準		p=0.055								
症状		川崎病主要症状					E状				
	発熱(5日	四	四肢末端の変化		不定形発	両側眼球	口唇口腔所見			頚部リン	冠動脈拡
抗体	以上)	硬性浮腫	紅斑	膜様落屑	疹	結膜充血	口唇紅潮	苺舌	口腔粘膜 発赤	パ節腫脹	張性変化
	49	14	25	20	36	23	22	17	7	8	6
陽性	87.5	25.0	44.6	35.7	64.3	41.1	39.3	30.4	12.5	14.3	10.7
陰性	69	13	21	20	45	35	28	14	13	23	6
医注	72.6	13.7	22.1	21.1	47.4	36.8	29.5	14.7	13.7	24.2	6.3
有意水準	p<0.05		p<0.05	p<0.05	p<0.05			p<0.05			
症状		そ(	の他の症状	等							
抗体	腎不全	腸間膜 リンパ節 炎、腫大	回盲部 リンパ節 腫脹	回腸末端 炎	家族内 発症	山水・ 井戸水の 使用					
	19	6	6	2	12	15					
陽性	33.9	10.7	10.7	3.6	21.4	26.8					

### (5) 菌株及びその他の検体の検査結果

事例	検体名	検体数	結果	血清群	備考
1	患者血餅	1	陰性		抗体陰性
2	井戸水	1	陰性		抗体陰性
3	井戸水	2	陰性		抗体陽性(Yp2群)
4	患者便	1	陰性		抗体陰性
	井戸水	2	陰性		抗体陽性(Yp2群)
5	菌株	1		Yp2群	便由来株(病原遺伝
	四水			ТРЕНТ	子保有)*
6	井戸水	1	陰性		抗体陽性(Yp10群)
					抗体陽性(Yp5群)
7	菌株	1		Yp5群	便由来株(病原遺伝
					子保有)*
	井戸水	11	陰性		抗体陽性(Yp4群)
8	菌株	1		Yp4群	便由来株(病原遺伝
	<b>凼</b> 你	'		T D4有干	子保有)*
					抗体陽性(Yp4群)
9	菌株	1		Yp4群	便由来株(病原遺伝
					子保有)*
					抗体陽性(Ye O:5群)
10	菌株	1		Ye O:5群	
					子保有)*
	計	14			

\* 患者便由来株は病院等で培養実施。

- ○当センターで実施した患者 血餅及び便、井戸水の培養 - は陰性。
- ○事例3と6は、井戸水陰性、 抗体陽性。
- ○事例5と8は、井戸水陰性、 患者便由来株と同じ血清群 の抗体陽性。\*
- ○事例7、9、10は、患者便 由来株と同じ血清群の抗体 陽性。\*
- 〇すべての分離株が病原 遺伝子を保有。

(Yp:virF, inv, Ye:virF,ail)

# 既存試料及び情報の他の研究機関への提供 (研究計画の一部変更について)

\*研究計画の一部変更については、令和3年7月26日付で、当センター倫理審査委員会により承認済み

#### (1) 既存試料・情報の利用目的及び利用方法

当センターで保管する既存血清(2016年4月~2019年3月)の一部を、国立感染症研究所細菌第一部で実施するエルシニア抗体価測定法(Y. pseudotuberculos isのELISA法及び凝集反応)の開発に関する研究の陽性または陰性対照として使用する。

既存血清は当センターの検査Noのみ表記して匿名化し、情報は陽性・陰性の別、陽性の場合は血清群及び抗体価を記載する。

#### (2)提供に係る倫理的配慮

オプトアウトにより「研究対象者等に通知し、又は公開すべき事項」及び「いつでも同意撤回が可能」の旨を追加掲載し、 当センターのホームページ上で公開して、提供を行う。

\*可能な範囲で主治医あるいは患者へ連絡済み。

## 既存試料及び情報の他の研究機関への提供

# (3) 既存試料・情報の提供に関する記録の作成と管理

「他の研究機関への試料・情報の提供に関する届出書」を作成し、ファイルして文書ロッカーに保管する。これを設置する部屋は施錠して管理し、提供した日から3年間保管する。

29名分50検体を送付済み。

	報告者所属:細菌科職名:特別研究員
	職 名:特別研究員 氏 名:狩屋 英明
one from a constanting	に、右: 行座 央明 :実施している「エルシニア抗体価測定等によるエルシニア8
	- 共組している「エルシー) 机停備固定等によるエルシー)。 者血清のうち、当施設が 2016 年から 2019 年 3 月に収集・6
	日面得のうち、日地政が2016年から2018年3月に収集・ る情報を、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する(
	E研究所細菌第一部へ提供いたしますので、以下のとおり報f
Et.	THIS CONTRACTOR OF THE PROPERTY OF THE PROPERT
- / 0	□ 提供先の機関の研究計画書
	添付資料 □ 提供先の機関の倫理審査委員会承認の証
	<ul><li>その他()</li></ul>
1. 研究に関する事項	
研究課題	「エルシニア抗体価測定法の開発に関する研究」
研究機関名	国立感染症研究所 細菌第一部
子定研究期間	2021年9月~2023年3月
提供する試料・情報	試料名:血清 名分、 検体(別紙一覧表
の項目	情報 当施設の検査 No、陽性・陰性の別、
	陽性の場合は血清群及び抗体価
提供する試料・情報	エルシニア抗体価測定のため 2016 年から 2019 年 3 月に関
の取得の経緯	得
提供方法	冷蔵便による輸送
	国立感染症研究所 細菌第一部
研究責任者	職名:室長
	氏名:泉谷 秀昌
2. 確認事項	Į.
研究対象者の同意の	☑ オプトアウトにより行うが、可能な限り主治医に連続
取得状况等	(別紙一覧表に記載)
当施設における通知	☑ 通知又は当センターホームページ上での公開+拒否機:
又は公開の実施の有無	の保障(オプトアウト)を実施
対応表の作成の有無	□ あり(管理者: )(管理部署:
対応表の作成の有無	□ あり(官埋有: )(官埋部者: ☑ なし
試料・情報の提供に	<ul><li>び なし</li><li>ご この申請書を記録として保管する</li></ul>
関する記録の作成・	(管理者: 行屋英明 ) (管理部署: 細菌科
保管方法*	(方法:施錠した部屋の文書ロッカー内で3年間保管)
//	□ その他(
(施設管理用)	,
倫理審査委員会における	審査 □ 不要

他の研究機関への制料・情報の提供に関する屋出す

## 既存試料及び情報の他の研究機関への提供

#### (4)提供の停止

「試料・情報の他の研究機関への提供停止通知書」を使用し、通知書の提出により試料提供者本人又は代諾者の意思表示を明確にできるようにする。

#### 試料・情報の他の研究機関への提供停止通知書

私は、「エルシニア抗体価測定等によるエルシニア感染症及び川崎前の研究」への参加 に同意し同意書に署名しましたが、研究計画の変更に伴う他の研究機関への試料及びこ れに係る情報の提供について停止を求めるため、ここに提供停止通知書を提出します。

			西曆	年	月	B
氏名		本人または代諾者 本人との関係)			(自	筆)
	(都道府県名) (医療機関名) 環境保健センタ	* 一に直接提出する!	場合に記載			
武料・情報 します。	の他の研究機関	一の提供停止につ	いて、その意思	を確認し	たこと	を証
確認者の氏施設名					(自:	筆)
カルテ No: (注) 試料・情報の	`	の親.冊 0k ul- 添加電	が掘出された相	L△ 38-91	. Helse	24-200
		ヤンダーで継続し				

供先の国立威染症研究所において適切に処理して座産されます

## エルシニア抗体価調査に関する文献・業績

- 1. 苔口知樹、志村紀彰、神薗淳司、村上珠菜、山根浩昌、今村徳夫、石橋紳作、天本正乃、 市川光太郎:川崎病に4回罹患後にYersinia pseudotuberculosis感染症を起こした1男児例. 小児内科 48:116-121, 2016
- 2. 中嶋 洋、河合央博、岡田達郎、狩屋英明、望月 靖:加熱抗原を用いた血清抗体価測定によるYersinia pseudotuberculosis感染症の発生状況調査. 感染症学雑誌 96:8-14, 2022