

F. 研究発表

1. 論文発表

- ① 須賀万智, 吉田勝美, 武澤純, 荒川宣親. ICU 内獲得感染症による医療負担の評価. 環境感染 2004;19:389-394.
- ② 須賀万智, 吉田勝美, 武澤純, 荒川宣親. ICU 施設属性と ICU 内獲得感染症の関係. 環境感染 2004;19:395-400.
- ③ Suka M, Yoshida K, Takezawa J. Association between APACHE II score and nosocomial infections in intensive care unit patients: a multicenter cohort study. Environ Health Prev Med 2004;9:262-265.
- ④ 須賀万智, 吉田勝美, 武澤純. ICU 患者における APACHE スコアと感染症発症率の関係. 環境感染 2005 (印刷中)
- ⑤ 須賀万智, 吉田勝美, 武澤純. 多施設共同研究による ICU の施設特性と院内感染の関係. 環境感染 2005 (印刷中)
- ⑥ 須賀万智, 吉田勝美, 武澤純. 集中治療室の肺炎の院内感染率の比較検討. 環境感染 2005 (印刷中)

2. 学会発表

- ① 大枝真一, 市村匠, 須賀万智, 吉田勝美. 免疫型マルチエージェントニューラルネットワークによる知識獲得手法の提案. 第 20 回ファジィシステムシンポジウム (2004)
- ② Suka M, Oeda S, Ichimura T, Yoshida K, Takezawa J. Comparison of Proportional Hazard Model and Neural Network Models in a real data set of intensive care unit patients.

MEDINFO (2004)

- ③ 須賀万智, 吉田勝美, 武澤純. ICU 入室患者の院内感染に関連する施設要因の検討. 第 20 回環境感染学会 (2005)
- ④ 須賀万智, 吉田勝美, 武澤純. 院内感染サーベイランス導入後の ICU 内感染率の変化. 第 20 回環境感染学会 (2005)
- ⑤ 須賀万智, 吉田勝美, 武澤純. ICU の院内感染率の比較検討. 第 75 回日本衛生学会 (2005)
- ⑥ 須賀万智, 吉田勝美, 武澤純. ICU の院内感染率の経年的変化. 第 75 回日本衛生学会 (2005)

G. 知的所有権の取得など

1. 特許許可
2. 実用新案登録
3. その他

気管挿管中におけるカフ上洗浄手技の検討
－カフ圧・注入量・体位とカフ下部への落ち込みの関係－

分担研究者 東北大学附属病院集中治療部 星邦彦 助教授

研究要旨：重症病棟看護師 78 名（回収 68%）に、人工呼吸器関連肺炎の予防策として行なっているカフ上洗浄のアンケート調査を行なった。次に、気管支模型と内径 7.5mm のサイドチューブ付挿管チューブを用いたモデル実験を行なった。カフ圧を 30、60、80、100mmHg に設定後、洗浄液を 2、3、4、5、6ml/回を注入し、5 秒後にカフ下部への落ち込みを確認した。次にカフ圧を 60、80mmHg とし、体位をギャッジアップ 10、15 度とし、洗浄液を 2、3、4、5、6ml/回を注入し 5 秒後にカフ下部への落ち込みを確認した。カフ上洗浄の手技に「自信がある、少しある」と答えたのは 29%、「殆どない、全くない」と答えたのは 71%であった。注入した洗浄液が「殆ど引けない」と答えたのは 47%であった。洗浄時のカフ圧は、「30mmHg」が 38%、「50mmHg」が 19%であった。1 回注入量は、「3ml」が 40%、「2ml」が 30%であった。モデル実験では、カフ圧 30mmHg ではすべての注入量で落ち込みがあり、60mmHg では 3ml 以上で落ち込みがあった。80、100mmHg では落ち込みはみられなかった。全てのカフ圧で、6ml 以上の時口側へ漏れが生じた。ギャッジアップ 10、15 度で 3ml 以上の注入時に落ち込みがみられた。

カフ上洗浄を行なう際の注意点として、臥位に近い体位で行う、1 回注入量は 3ml 以上にする、口腔・鼻腔の吸引を必ず行うことが挙げられる。今後の課題としては、カフ上洗浄が肺炎の予防になるのかどうか検証が必要である。

A. 研究目的

人工呼吸器関連肺炎(Ventilator Associated Pneumonia:以下 VAP) は気管内挿管による人工呼吸開始 48 時間以降に発症する肺炎と定義され、その発症率は 9~24%と言われている。VAP を発症すると ICU 滞在日

数や死亡率の増加を招くため、VAP 対策が ICU での大きな問題となっている。VAP の発症原因として、上気道の分泌物が気管内チューブのカフと気管の隙間を介して下気道に落ち込むこととされている。

東北大学病院集中治療部では、気管挿管

中の患者に対し VAP 予防として、閉鎖式吸引システムの採用、経口挿管の選択、カフ上吸引ができる気管内チューブの採用、持続カフ上吸引システムの採用、ポビドンヨードを用いた口腔内清拭やカフ上洗浄などを行っている 1.2.3). 特にカフ上洗浄は気管切開患者に対し、スピーキングチューブを使用していた十数年前からスピーキング用側孔を利用して行っていた 4). その後声門下腔の洗浄・吸引が可能なサイドチューブ付気管挿管チューブが導入され、気管挿管患者(気管切開患者以外)に対しても同様にポビドンヨードを用いたカフ上洗浄を行い始めた。しかし、カフ上洗浄の手技が完全に標準化されておらず、また注入した洗浄液が十分に吸引されないという印象が強く、現状のカフ上洗浄では下気道への落ち込みを増加させ、VAP を誘発する可能性があるだけではないかと考えられた。

そこで、当病棟看護師を対象にしたアンケートによるカフ上洗浄の意識と実態調査を行い、その後気管支模型による実験を施行し、カフ上洗浄のカフ圧や注入量とカフ下部への落ち込みとの関係などを検討した。

B. 研究方法

1. カフ上洗浄の意識と手技についてのアンケート調査

平成 15 年 11 月 25 日から 12 月 5 日の間に、当院重症病棟看護師スタッフ 78 名(回収率 68%)を対象として、カフ上洗浄の手技の自信の有無、注入した洗浄液の引け具合、洗浄時の設定カフ圧、洗浄液の 1

回注入量、体位や顔の向き、洗浄液を吸引する部位、洗浄液が引けない時の対処法などを調査した。

2. 実験調査

タイコヘルスジャパン気管支模型(プラスチック製)とマリンクワット社製 7.5Fr サイドチューブ付挿管チューブを使用し、気管支模型上部断面にゴム膜を張り、中央部 5mm を切開し声門と見立て、チューブ先端の位置が声門下 10.5cm になるようなモデルを作成した(図 1)。

実験 1. カフ圧を 30、60、80、100mmHg に設定し、洗浄液を 2、3、4、5、6ml/回を注入し、5 秒後に吸引しカフ下部への落ち込みの有無を確認した。同じ条件で 4 回注入し、担当看護師が落ち込みの有無を決定した。

実験 2. カフ圧を 60、80mmHg に設定し、体位の位置をギヤッジアップ 10 度、15 度、側臥位とし、洗浄液を 2、3、4、5、6ml/回を注入し 5 秒後に吸引し、実験 1 と同じようにカフ下部への落ち込みの有無を確認した。

C. 研究結果

研究 1. アンケート調査

1-1. カフ上洗浄について

手技への自信が「ある」「少しある」と答えたスタッフは全体の 29%で、「殆どない」「全くない」と答えたスタッフは 71%であった。自信がない理由として、「注入した洗浄液が十分に引けない」が 85%と大多数を占めていた。

注入した洗浄液が「殆ど引けない」と答えたスタッフは 47%で、「全く引けない」は 2%であり、約半数のスタッフが引けないと感じていた。うまく引けない時の対処法は、55%のスタッフが「ある」と答えていた。具体的な対処法としては、「シリンジによる用手吸引」「顔の向きを変えてみる」の順で多く、どちらも 30%台であった。以上の対処法を行った結果、「よく引ける」は 9%、「少し引ける」は 50%、「殆ど引けない」は 32%、「全く引けない」は 9%であった。これに対し、引けないと感じながらも 45%のスタッフは何も対処をしていなかった。

1-2. カフ上洗浄手技について

洗浄時の設定カフ圧は、20~60mmHg と様々であった。そのうち「30mmHg」が 38%、「50mmHg」が 19%で多かった。1回注入量も 1~6ml と様々であった。そのうち「3ml」が 40%、「2ml」が 30%で多かった。体位は「特に決めていない」が 44%、「水平仰臥位」が 34%、「セミファウラー位」が 19%、「側臥位」が 5%であった。

研究 2. 実験調査

2-1. カフ圧と落ち込み (表 1)

水平仰臥位において 30mmHg では 2~6ml すべての注入時に落ち込みがみられ、60mmHg では 3ml 以上の注入時にカフ下部への落ち込みがあった。80mmHg、100mmHg ではカフ下部への落ち込みはなかった。

2-2. 1回注入量の検討

サイドチューブ内の容量は 1.5ml であっ

た。全てのカフ圧で、6ml 以上の時声門部より漏れが生じた。2ml では挿管チューブ下面に接する程度であった。

2-3. 体位による落ち込み (表 2)

カフ圧 80mmHg においても、ギャッジアップ 10 度、15 度で共に 3ml 以上の注入時に落ち込みがみられ、側臥位では 2~6ml すべての注入時にカフ下部への落ち込みがあった。

D. 考察

我々の施設では、VAP の予防策として口腔ケアやカフ上持続吸引、及びカフ上洗浄などを行っている。口腔ケアやカフ上持続吸引は CDC ガイドラインなどで推奨されているが、カフ上洗浄の有用性を報告した論文は見当たらない。カフ上洗浄を行っている我々の施設においても、カフ上洗浄の手技が標準化されておらず個人に任せきりであった。また注入した洗浄液が十分に吸引されないという印象が強く、注入した洗浄液が声門を超えて口腔内に流入しているならばよいが、カフを通して下部気道に落ち込んでいる可能性もあり、今回の検討となった。

アンケートの結果でも、カフ上洗浄時の設定カフ圧、一回注入量、注入時の体位などは看護師によって様々であり、その結果、カフ上洗浄の手技に対する自信のなさを半数以上の看護師が指摘していた。注入した洗浄液が吸引できないときの対応策も個人差が大きく、手技の標準化を図らなければならないと思われた。

仰臥位の位置で行ったモデル実験では、カフ圧 60mmHg 以下では注入した洗浄液がカフ下部へ落ち込む可能性が高く、カフ圧 80mmHg ではカフ下部への落ち込みはなかった。臨床でのカフ上洗浄時の最大カフ圧は 60mmHg であり、このモデル実験結果から推測すると洗浄液がカフ下部へ落ち込んでいる可能性がある。しかし、カフ圧を 80、100mmHg と増加させると落ち込みはなかった。今回の実験からは洗浄液がカフ下部に落ち込むのを防ぐ最少カフ圧は 80mmHg であったが、気道粘膜保護などを考慮すると望ましいカフ圧設定値を決定するには至らなかった。

サイドチューブの容量は 1.5ml であり、1 回注入量が 2ml では洗浄を行う量としては足りないと思われ、3ml 以上が望ましいと考えられた。また、1 回注入量が 6ml 以上では声門部に見立てたゴム膜の切開部より漏れが生じた。実際の臨床でも 6ml 以上注入すると声門を通り口腔内へ上がっていく可能性があると思われた。また、1 回注入量が 5ml 以下であっても注入は繰り返し行う為、口腔・鼻腔内を十分に吸引しなければならない。

仰臥位時ではカフ下部への落ち込みが全くみられなかったカフ圧 80mmHg でも、体位をギャッジアップしたり側臥位にしたりとすると洗浄液のカフ下部への落ち込みがあった。体位による落ち込みの差はカフに接する面積や重力が深く関与していると思われた。

今回の実験ではプラスチック製の気管支

模型であったため、注入した洗浄液が十分に引けないということはなくスムーズに吸引できた。臨床で十分に引けない原因としては、サイドチューブの吸引孔が狭く、また気管は柔軟であるため急激な陰圧により容易に気管壁と接触し吸引孔の閉塞が生じることが考えられる。その対処法として、①急激な陰圧を避けるために 10ml 程度のシリンジにてゆっくりと用手吸引を行う、②サイドチューブの吸引孔と気管壁の密着を解除する為、顔の向きを変えるなどが重要な因子となると思う。サイドチューブの構造や気管との関係を理解し対処法を知ることが、不安の軽減とカフ上部洗浄手技の自信につながると考えられる。

E. 結論

カフ上洗浄を行うにあたって今回の検討で判ったことは、

1. 水平仰臥位に近い体位で行うこと
 2. 1 回注入量は 3ml 以上にすること
 3. 口腔・鼻腔の吸引を必ず行うこと
- などが挙げられる。また、洗浄液が引けない場合の対処法としては、10ml のシリンジでゆっくりと用手吸引を行う、顔の向きを変えるなどが挙げられる。

これからの課題としては、カフ上洗浄が実際に VAP の予防になっているのかどうか検証が必要である。

F. 研究発表

論文発表

1. 赤田信二、竹田晋浩、池崎弘之、他。

気管チューブカフ上吸引における吸引量の比較（持続吸引対間欠吸引）. 日集中医学誌 2004 ; 11 : 43-44

2 永瀬由佳、長見末子、西原紀子、他. 気管内チューブのカフ上部洗浄効果の検討. Emergency nursing 2003 Vol.6 No.4 ; 7.

3. 柴山健三、盛田麻巳子、天野瑞枝、他. 気管内挿管チューブのカフ上部への間欠的洗浄による循環動態の変化. 日本看護科学会誌 1998 ; Vol.18,No.3 : 37-44

4. 西沢英雄、山口修、磨田裕、他. リドカインのカフ上部注入による気管内チュー

ブ違和感の軽減. ICU と CCU 1991 ; 15(1) : 35-39

学会発表

1. 平澤一恵、阿部えみ子、清水和佳子、及川千代、長谷川正志、星邦彦：気管挿管中におけるカフ上洗浄手技の検討ーカフ圧・注入量・体位とカフ下部への落ち込みの関係ー. 第 26 回日本呼吸療法医学会学術総会(函館) 2004 年

図1.

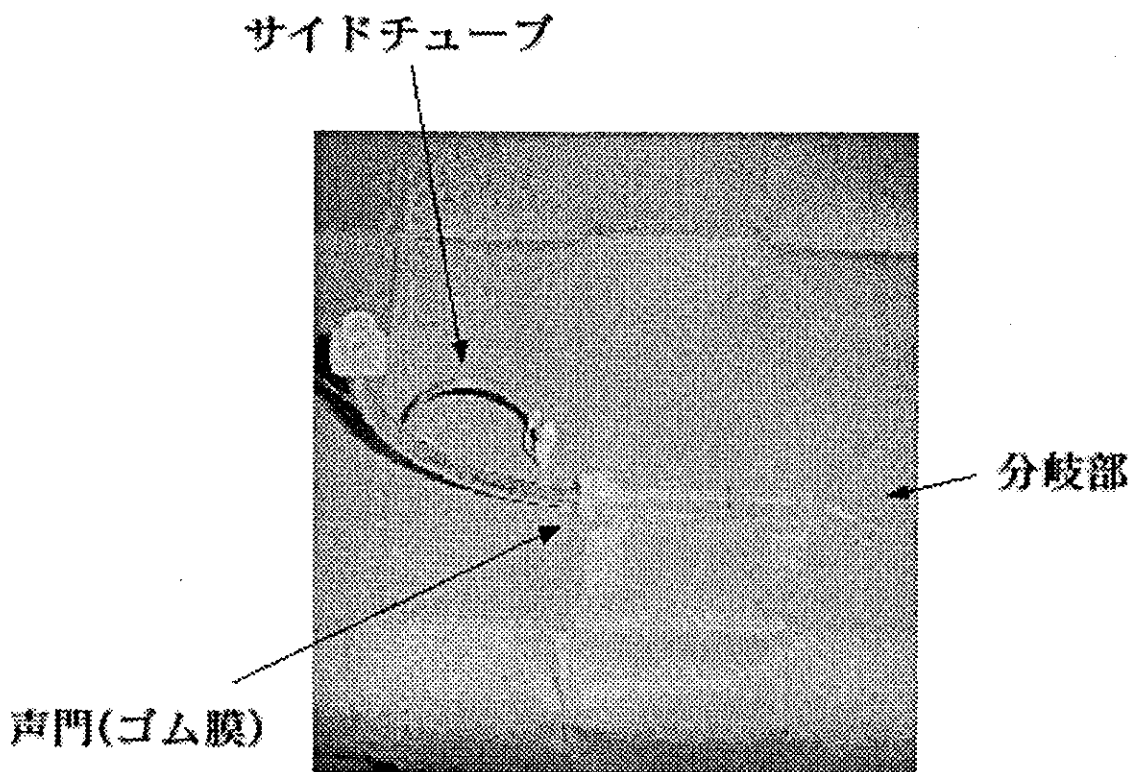


図1. 作成した気管モデル

表 1. 水平仰臥位でのカフ圧の設定による落ち込みの有無

カフ圧 \ 注入量	2ml	3ml	4ml	5ml	6ml
30mmHg	+	+	+	+	+
60mmHg	-	+	+	+	-
80mmHg	-	-	-	-	-
100mmHg	-	-	-	-	-

+: 落ち込みあり

-: 落ち込みなし

表 2. カフ圧80mmHgでの体位による落ち込みの有無

	2ml	3ml	4ml	5ml	6ml
ギヤッチアップ10度	-	+	+	+	+
ギヤッチアップ15度	-	+	+	+	+
側臥位	+	+	+	+	+
仰臥位	-	-	-	-	-

+: 落ち込みあり

-: 落ち込みなし

バンコマイシン血中濃度測定の必要性

分担研究者 境田康二 船橋市立医療センター麻酔科集中治療科 部長

研究要旨：MRSAに罹患し、バンコマイシンを使用する場合、どのような患者で投与量などについて綿密な計画をすれば良いか不明である。今回、集中治療室で治療を受けた72症例のバンコマイシン血中濃度を測定し、その値から薬物動態解析をピーク濃度とトラフ濃度から検討した。この結果よりバンコマイシン投与においては年齢、性別などは考慮することなく投与計画を立てても問題とならないが、腎障害患者では綿密な投与計画が必要と考えられた。現在保険適応がない血中濃度測定であるが、今後の検討が望まれる。

A. 研究目的

重症患者を治療する集中治療室においては、日和見感染によりMRSAに罹患することは、避けることはできない。バンコマイシンは通常投与量が2.0g/dayであるが、年齢、性差、などには無関係に投与されている。体内に残存したバンコマイシンの濃度により聴覚障害、腎障害などが発生することより、バンコマイシン投与時には厳密な管理が必要である。どのような患者でこのような合併症を防ぐために綿密な投与計画を立てる必要があるかを本研究により検討した。

B. 研究方法

当センター集中治療室入室患者においてバンコマイシンを使用した72例でバンコマイシン投与直前、投与1時間後の血中濃度を測定し、この値をもとにVCM-TDM on Excel.Ver.2.03の解析ソフトを用い、薬物動態のシミュレーションを実施し、ピーク値、トラフ値を比較検討した。統計処理は χ^2 検定で行った。

C. 研究結果

1) 腎機能正常例の性別での比較（表1,2）
腎機能正常患者、男性35例、女性17例

でのピーク値、トラフ値である。両群間で年齢は 67.4 ± 11.3 歳、 58.2 ± 21.6 歳と有意差はなかった。ピーク値であるが男性で 21.7 ± 8.1 、女性で 22.6 ± 10.9 と有意差はなかった。トラフ値は男性で 8.3 ± 4.3 、女性で 9.5 ± 7.6 と有意差はなかった。

2) 腎機能正常例の年齢での比較（表3,4）
腎機能正常患者、65歳未満21例、65歳以上31例でのピーク値、トラフ値である。両群間で年齢は 49.6 ± 14.1 歳、 74.4 ± 6.0 歳と65歳以上群で有意に高かった（ $p < 0.01$ ）。ピーク値であるが65歳未満で 22 ± 10.2 、65歳以上で 22 ± 8.4 と有意差はなかった。またトラフ値は65歳未満で 7.8 ± 6.6 、65歳以上で 9.3 ± 4.6 と有意差はなかった。

3) 腎障害の有無での比較（表5,6）
腎機能正常患者52例と腎機能障害患者20例の両群間で年齢は 64.4 ± 15.8 歳、 62.2 ± 15 歳と有意差はなかった。ピーク値であるが腎機能正常患者で 22 ± 9 、腎機能障害患者で 32.6 ± 10.8 と腎機能障害患者で有意に高かった（ $p < 0.01$ ）。

またトラフ値は腎機能正常患者で 8.7 ± 5.5 、腎機能障害患者で 18.1 ± 10 とやはり腎機能障害患者で有意に高かった。（ $p < 0.01$ ）

D. 考察

1) バンコマイシンの推奨濃度について

バンコマイシンの推奨濃度であるが2つの濃度が言われている。まずトラフと呼ばれるバンコマイシン追加投与直前の濃度でこの値が $10 \mu\text{g/ml}$ を下回れば腎障害の可能性は低くなると言われている。次にピークと呼ばれるバンコマイシン投与1~2時間後の濃度でこの値が $25\sim 40 \mu\text{g/ml}$ の間に収まっていれば聴覚神経障害の可能性が低くなると言われている。

つまり VCM 投与によりピークとトラフの間で血中濃度が推移すれば、バンコマイシンの副作用である腎障害、聴覚障害を気にすることなく、薬効を期待できることになる。

2) 今回は72例のバンコマイシン使用患者のピーク値とトラフ値を測定し、性別、年齢、腎傷害の有無で、ピーク値、トラフ値を比較、検討した。

腎機能正常患者、男性35例と女性20例の比較では、2群間に年齢の有意差はなく、ピーク値、トラフ値とも有意差はなかった。これよりバンコマイシン投与は性差による投与量の変更は不必要と考えられた。

腎機能正常患者、65歳未満21例、65歳以上31例の比較では、2群間に有意に年齢差があったが、ピーク値、トラフ値に有意差はなかった。これよりバンコマイシン投与においては年齢を考慮することなく投与量を決定しても問題ないと考えられた。

腎機能正常患者52例と腎機能障害患者20例の比較では2群間に年齢での有意差はなかったが、ピーク値、トラフ値とも腎機能障害患者で有意に高かった。これより

腎機能障害患者ではバンコマイシン投与においては、綿密な投与計画が必要と考えられた。

3) 腎障害患者では通常バンコマイシン投与は 0.5g/週 が妥当とされているが、血液透析の併用、あるいは緩徐式血液濾過透析(CHDF)などの治療が行われている患者では投与量の推定が困難になる。バンコマイシンの副作用を起こすことなく、薬剤投与を行っていくには、血中濃度からピーク値、トラフ値を求め、常に推奨濃度内に収まるような投与計画を行う必要があると思われた。

4) MRSA 患者の治療にはバンコマイシンを使用せざるを得ない症例があることは事実であるが、その副作用によりさらに腎障害を悪化させることの無いような投与方法をすべての症例で行うようにしなければならない。

E. 参考文献

1. Goebel J, Ananth M, Lewy JE: Hemodiafiltration for vancomycin overdose in a neonate with end-stage renal failure. *Pediatr Nephrol* 1999; 13: 423-5
2. Yamaoka K, Tanigawara Y, Nakagawa T, et al: A pharmacokinetic analysis program(multi) for microcomputer. *J Pharmacobiodyn* 1981; 4: 879-85
3. Tan CC, Lee HS, Ti TY, et al: Pharmacokinetics of intravenous vancomycin in patients with end-stage renal failure. *Ther Drug Monit* 1990; 12: 29-34

表1.性差 (男 35 例、女 12 例)

男

	年齢	ピーク	トラフ
平均	67.4	21.7	8.3
標準偏差	11.3	8.1	4.3
中央値	72	20.8	8

表2

女

	年齢	ピーク	トラフ
平均	58.2	22.6	9.5
標準偏差	21.6	10.9	7.6
中央値	62	19	7

表3.年齢 (65 歳未満 21 例、65 歳以上 31 例)

65 歳未満

	年齢	ピーク	トラフ
平均	49.6	22	7.8
標準偏差	14.1	10.2	6.6
中央値	52	20.8	5

表4

65 歳以上

	年齢	ピーク	トラフ
平均	74.4	22	9.3
標準偏差	6	8.4	4.6
中央値	74	19	8.9

表5. 腎障害の有無 (あり 20 例、なし 52 例)

あり

	年齢	ピーク	トラフ
平均	64.4	22	8.7
標準偏差	15.8	9	5.5
中央値	68	20.1	7.9

表 6

なし

	年齢	ピーク	トラフ
平均	62.2	32.6	18.1
標準偏差	15	10.8	10
中央値	71	31	17.2

F.研究発表

なし

G.知的所有権の取得など

なし

厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）
分担研究報告書

NICU で発生した基質拡張型の形質を示す GES-型 β -lactamase 産生肺炎桿菌の施設内伝播

分担研究者 荒川 宜親 国立感染症研究所 細菌第二部 部長

研究要旨：昨年度の研究により、NICU などでは、MRSA の他に、緑膿菌や大腸菌、肺炎桿菌などの様々な細菌が院内感染の起因菌として問題となりつつある事を報告した。今回は、公的な一基幹病院の NICU で発生したセフトラジジム（CAZ，商品名：モダシン）耐性肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*) の施設内伝播について報告する。2001 年の 9 月から 2002 年の 8 月にかけて、某市立病院の NICU において、CAZ に耐性を示す肺炎桿菌が 6 名の新生児、未熟児から分離された。分離材料は、気管分泌物 3 件、鼻粘膜拭い液 1 件、膿 1 件、便 1 件で、何れも「保菌例」と考えられた。詳しい遺伝子解析の結果、これらの肺炎桿菌は、GES 型 β -ラクタマーゼを産生する肺炎桿菌である事が判明した。また、GES-型 β -ラクタマーゼの遺伝子は、伝達性のプラスミドにより媒介されており、接合伝達により遺伝的背景が異なる株に伝達される事が示唆された。PFGE 解析の結果、この 6 株は遺伝的に近縁の関係にある事が確認され、当該 NICU において施設内伝播した可能性が強く示唆された。さらに、これらの株の 1 つにセファマイシンやカルバペネムにやや高い耐性を付与する株が認められた為、詳しい解析を行ったところ、170 番目のアミノ酸のグリシンがセリンに変換した新しい酵素を産生する株である事が判明し、抗菌薬の投与により新たに出現した耐性変異株である事が示唆された。

研究協力者

和知野純一、土井洋平

（国立感染症研究所 細菌第二部 研究員）

A. 研究目的

近年、国内の医療施設でセラチアやエンテロバクター、緑膿菌などによる同時多発的血流感染とそれに伴う死亡事例や MRSA 感染死亡事例などがマスコミ等で報道され、社会的に大きな関心事となっている。この種の細菌による院内感染症は、以前より臨床現場ではしばしば遭遇する感染症であるが、それらの多くは術後の患者や人工呼吸器を装着された患者など感染防御能力の低下した患者における感染症であり、特に最近、多剤耐性を獲得した株による感染症が問題となっている。そこで、感染防御能力の低下した患者が収容される機会の多い

ICU、NICU においてどのような菌種や耐性菌による感染症が、主に海外の医療施設において問題となっているかを、昨年度は文献検索により解析、検討した。今年度は、九州地域の一市民病院の NICU においてセフトラジジム (CAZ，商品名：モダシン) に高度耐性を獲得した肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*) が、施設内伝播した事例について細菌学的に検討したので報告する。

B. 研究方法

2001 年の 9 月から 2002 年の 8 月にかけて、九州地域の市立病院の NICU において、CAZ 耐性肺炎桿菌が 6 名の新生児、未熟児から分離された（表 1）。分離材料は、気管分泌物 3 件、鼻粘膜拭い液 1 件、膿 1 件、便 1 件で、何れも「保菌例」と考えられた。これらの株の中の代表的な一株からセフ

タジジム耐性に関与するβ-ラクタマーゼの遺伝子をクローニングし塩基配列を決定した。また、これらの6株のPFGE解析を実施した。

さらに、β-ラクタマーゼを抽出し酵素学的な特徴を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒト由来の試料や個人情報を扱わず、新生児、未熟児から分離された菌についての解析が主体であるため、倫理面の問題は発生しない。

C. 研究結果

詳しい遺伝子解析の結果、6株の中の一株(*K. pneumoniae* KG525株)は、GES型β-ラクタマーゼを産生する肺炎桿菌である事が判明した。GES型β-ラクタマーゼは、これまで、フランスなどの欧州で報告されていた拡張型基質特異性を示す新型のβ-ラクタマーゼであるが、図1に示すごとく、今回新しく発見されたβ-ラクタマーゼは、既に報告されていたものと数カ所のアミノ酸残基の置換が起きており、我々はGES-3と新たに命名した。

GES-3の遺伝子は、伝達性のプラスミドにより媒介されており(図3)、接合伝達により遺伝的背景が異なる株に伝達される事が示唆された。また、GES-3の遺伝子(*bla_{GES-3}*)は、クラス1のインテグロンにより媒介されている事が明らかとなった(図2)。

6株の*K. pneumoniae*のPFGE解析を行ったところ、それらは、遺伝的に近縁の株である事が示唆された(図5)。

酵素学的な結果から、GES-3はセフトラジムを効率良く分解する事が確認された

(表2)。

さらに、セファマイシンにやや高い耐性を示す*K. pneumoniae* KG502株の産生するβ-ラクタマーゼは、KG525株の産生するGES-3と比べ170番目のグリシン(G)がセリン(S)に置換した新たな酵素である事が確認された(図4)為、酵素学的な解析を行ったところ、セファマイシンの分解活性が上昇している事が確認された(表3)為GES-4と新たに命名した。

GES-4の遺伝子(*bla_{GES-4}*)は、*bla_{GES-3}*と極めて類似したクラス1のインテグロン構造により媒介されている事が確認された(図4)。

D. 考察

易感染性の未熟児や低出生体重児が収容される機会の多いNICUでは、感染症への対策が特に重要とされており、そこで働く医師や看護師の感染症対策に対する意識レベルにも高いものがある。しかし、現在でも感染症対策の主眼はMRSA対策に置かれているところも少なく無いのが現状と考えられる。たしかに、MRSAによる院内感染症や術後感染症については深刻なものがあり、我が国で実施されている「院内感染対策サーベイランス事業」の集計でも、ICU部門ではMRSA感染症の件数が首位を占めている。しかし、今回の事例では、腸内常在菌の一つである肺炎桿菌であっても、第三世代セファロスポリンであるセフトラジムやセファマイシンであるセフメタゾールに耐性を獲得した株が出現しており、NICU内において施設内伝播している事が確認された。既に、我々は、小児の白血病患者からCTX-M-2型β-ラクタマーゼを産生する*K.*

pneumoniae や *Escherichia coli* を確認し報告している (Ohkawa T, Yoshinaga M, Ikarimoto N, Miyahara 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.). しかし、これらの菌種は、腸管内などに保菌されていても特段の感染症状を示す事が無く、保菌や定着が見過ごされ、人知れずに血液疾患治療ユニットや新生児・未熟児治療ユニット内で伝播拡散する危険性が高い。そこで、今後、これらの基質拡張型 β -ラクタマーゼを産生するグラム陰性桿菌の NICU 内での伝播拡散には得に注意を払う必要がある。

今回、GES-3 を産生する *K. pneumoniae* に混じって新たに GES-4 を産生するセファマイシン耐性株が確認された。GES-4 は GES-3 と比べ、1箇所のアミノ酸置換のみを有しており、しかもそれを媒介するインテグロン構造も極めて近似していた。これらの事実は、GES-3 を産生するセフトラジウム耐性株が、新たにセファマイシンに晒された結果、170番目の G が S に置換した変異株が出現したものと考えられる。したがって、この事実は、特定の抗菌薬の選択圧の変化に伴い様々な変異株が臨床現場で出現する事を示唆しており、抗菌薬の選択と使用については、分離される耐性株の性状を常時確認しつつ行われる必要がある事を示している。

E. 結論

南九州地域の一市民病院のNICUにおいて、セフトラジウムに耐性を獲得した肺炎桿菌が、1年余に亘って分離されていた。これらの株を解析した結果 GES-型の新規 β -ラクタマーゼを産生する株である事が確認された。この事実は、これまで、NICUでの監視の対象となっている MRSA に加え、広域セファロスポリンやセファマイシンに耐性を獲得した肺炎桿菌などのグラム陰性桿菌の施設内伝播にも注意と監視を行う必要がある事を示唆していた。

F. 健康危険情報

第三世代セファロスポリンであるセフトラジウムやセファマイシンであるセフメタゾールに耐性を獲得した肺炎球菌の施設内伝播が、NICUで確認された。国内では、MRSA に対する警戒は多くの NICU で取られるようになっているが、PFGE 解析の結果、この 6 株は遺伝的に近縁の関係にある事が確認され、当該 NICU において施設内伝播した可能性が強く示唆された。未だ十分とは言えない。そこで、今後は、ICU や NICU では、これまでのように MRSA に主眼を置いた対策に加え、特に多剤耐性株や消毒薬抵抗性を獲得した複数の菌種に対し視点を広げた対策が必要となっている。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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 omega-loop. Antimicrob Agents Chemother. 2004 Aug;48(8):2905-10.

2. 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 beta-lactamase, GES-3, in a neonatal intensive care unit in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2004

Jun;48(6):1960-7.

2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

図1 GES-3 とこれまでに報告されている近縁の基質拡張型β-ラクタマーゼの比較

	20	30	40	50	62	
GES-3	MRFIHALLLAGIAHSAYASEKLTFTKTDLEKLEREKAAQIGVAIVDPQGEIVAGHRTAQRF					
GES-2	-----				M-----	
GES-1	-----				M-----	
IBC-1	-----				M-----	
	70	80	90	100 104	110	120
GES-3	AMCSTFKFPLAALVFERIDSGTERGDRKLSYGPDMIVKWSPATERFLASGHMTVLEAAQA					
GES-2	-----				E-----	
GES-1	-----				E-----	
IBC-1	-----				K-----	
	130	140	150	160	170	180
GES-3	AVQLSDNGATNLLLREIGGPAAMTQYFRKIGDSVSRLLDRKEPEMGDNTPGDLRDTTTPIA					
GES-2	-----				N-----	
GES-1	-----				G-----	
IBC-1	-----				G-----	
	190	200	210	220	230	240
GES-3	MARTVAKVLYGGALTSTSTHTIERWLIGNQTGDATLRAGFPKDWVVGKGTGCANGGRND					
GES-2	-----					
GES-1	-----					
IBC-1	-----					
	250	260	270	280	290	
GES-3	IGFFKAQERDYAVAVYTTAPKLSAVERDELVASVGQVITQLILSTDK					
GES-2	-----					
GES-1	-----					
IBC-1	-----					

図2 GES-3 の遺伝子を担うインテグロン構造と近縁の酵素のそれらとの比較

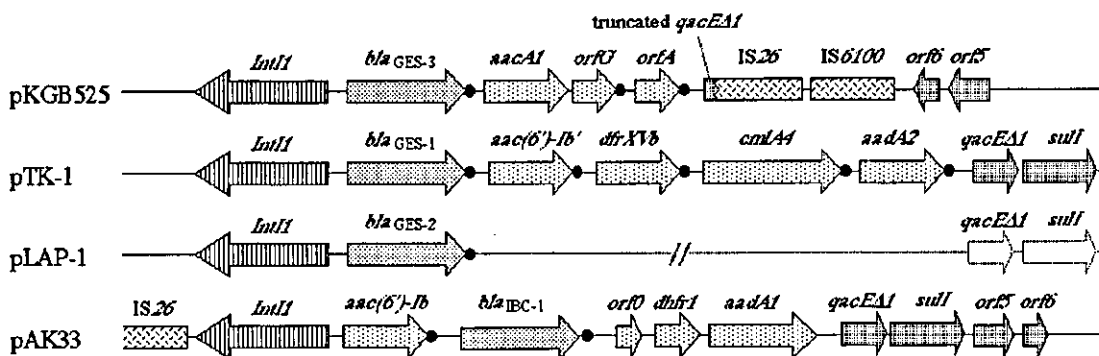


図3 GES型 β -ラクタマーゼの遺伝子の所在を示すサザンハイブリダイゼーション

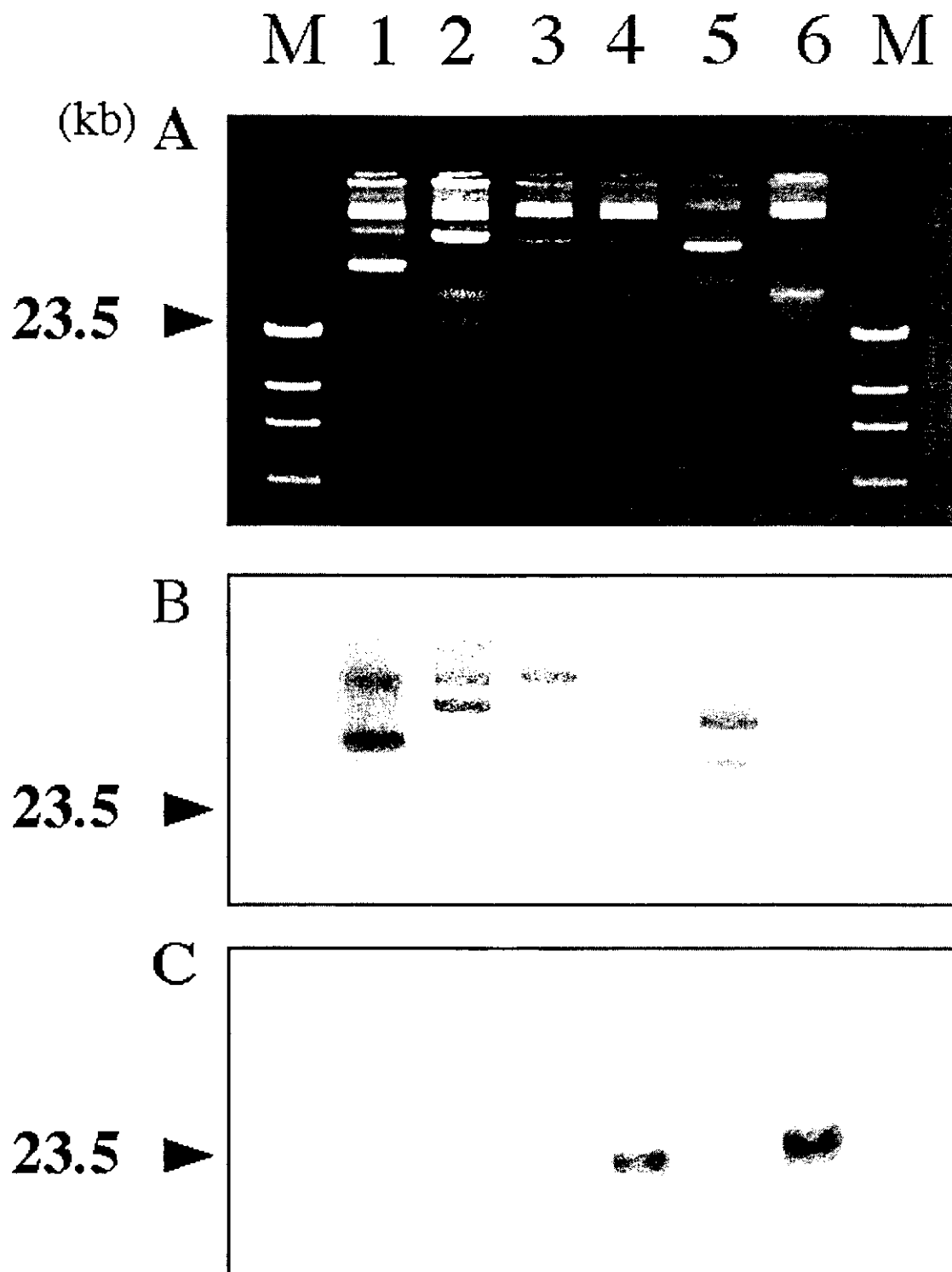


図4 GES-4型β-ラクタマーゼの遺伝子を担う構造

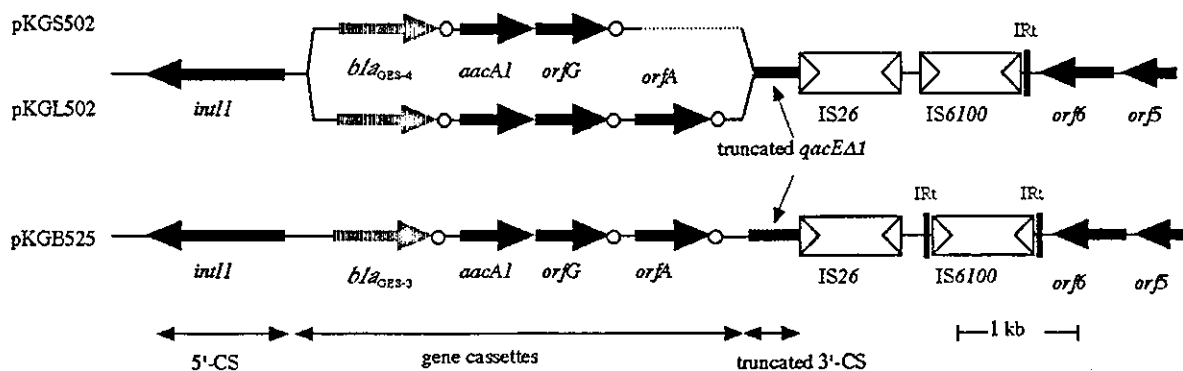


図5 GES型β-ラクタマーゼを産生する株のPFGE解析結果

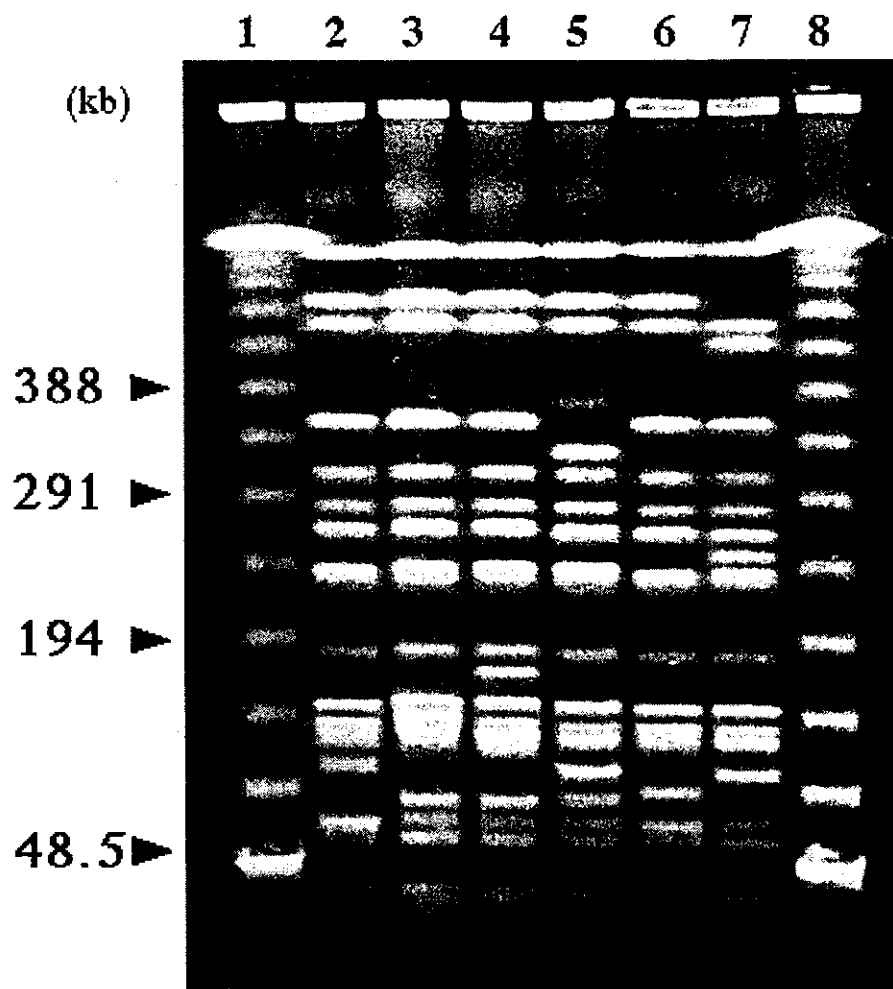


表1 NICUで分離された6株のCAZ耐性肺炎桿菌に対するMIC

K. pneumoniae strain	Date of isolation (mo/day/yr)	Site of isolation	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^a													
			AMX + CLA	PIP	PIP + TZB	CAZ	CAZ + CLA	CTX	ATM	CMZ	FEP	IPM	GEN	AMK	LVX	CIP
KG914	9/14/01	Bronchial secretion	>128	>128	128	>1,024	512	64	64	16	32	0.13	1	32	<0.06	<0.06
KG1116	11/16/01	Bronchial secretion	>128	>128	128	>1,024	128	64	64	16	32	0.13	0.5	32	<0.06	<0.06
KG525	3/4/02	Stool	>128	128	128	>1,024	256	64	64	16	16	0.13	2	64	<0.06	<0.06
KG548	3/7/02	Nasal mucosa	>128	>128	>128	>1,024	1,024	128	128	128	64	0.5	2	64	0.25	0.25
KG502	5/2/02	Pus	>128	128	64	1,024	512	16	32	>128	8	8	2	32	0.13	<0.06
KG827	8/27/02	Bronchial secretion	>128	128	32	>1,024	256	16	64	>128	32	0.5	2	32	2	1

^a Abbreviations: AMX, amoxicillin; CLA, clavulanic acid; PIP, piperacillin; TZB, tazobactam; CAZ, ceftazidime; CTX, cefotaxime; ATM, aztreonam; CMZ, ceftiozole; FEP, cefepime; IPM, imipenem; GEN, gentamicin; AMK, amikacin; LVX, levofloxacin; CIP, ciprofloxacin.

表2 GES-3とGES-4を産生する株に対する種々の抗菌薬のMIC

β -Lactam ^a	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	K. pneumoniae KG502(GES-4)	K. pneumoniae KG525(GES-3)	E. coli XLI-Blue pKGI502(GES-4)	E. coli XLI-Blue pKGS25(GES-3)	E. coli XLI-Blue pBCSK+
Ampicillin	>128	>128	>128	>128	4
Ampicillin + sulbactam	>128	>128	>128	2	2
Amoxicillin	>128	>128	>128	>128	4
Amoxicillin + clavulanate	>128	>128	>128	32	4
Piperacillin	128	128	64	16	1
Piperacillin + tazobactam	64	128	16	0.5	1
Cefotaxime	16	64	1	2	0.13
Cefotaxime + clavulanate	16	8	0.25	0.06	0.06
Cefotaxime + sulbactam	16	32	1	0.06	0.06
Cefotaxime + tazobactam	16	64	1	0.06	0.06
Cefazidime	1,024	>1,024	64	128	0.13
Cefazidime + clavulanate	512	256	8	4	0.06
Cefazidime + sulbactam	>128	>128	32	0.25	0.13
Cefazidime + tazobactam	>128	>128	32	0.5	0.13
Cephaloridine	>128	>128	64	16	2
Cefminox	>128	8	16	1	0.5
Cefixitin	>128	128	>128	8	4
Moxalactam	128	4	16	0.5	0.13
Cefmetazole	>128	16	128	2	0.5
Cefpirone	128	>128	1	2	0.06
Cefepime	8	16	0.25	0.25	0.06
Aztreonam	32	64	2	4	0.06
Imipenem	8	0.25	0.25	0.13	0.13
Meropenem	8	0.5	0.25	0.015	0.015

^a Clavulanate, tazobactam, and sulbactam were each used at a fixed concentration of 4 $\mu\text{g/ml}$.

表3 GES-3とGES-4の酵素学的な特徴と相違

Substrate	GES-4			GES-3			GES-2 ^b		
	K_m (μM)	k_{cat} (s^{-1})	k_{cat}/K_m ($\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	K_m (μM)	k_{cat} (s^{-1})	k_{cat}/K_m ($\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	K_m (μM)	k_{cat} (s^{-1})	k_{cat}/K_m ($\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)
Benzylpenicillin	160 \pm 10	130 \pm 10	7.8×10^5	33 \pm 7	15 \pm 1	4.5×10^5	4	0.4	9.6×10^4
Ampicillin	62 \pm 4	19 \pm 11	3.1×10^5	120 \pm 30	23 \pm 4	1.9×10^5	NP ^c	NP	NP
Cephaloridine	2,200 \pm 400	490 \pm 30	2.3×10^5	2,300 \pm 100	270 \pm 10	1.2×10^5	7.7	0.5	6.5×10^4
Cefotaxime	700 \pm 200	17 \pm 6	2.4×10^4	1,100 \pm 100	120 \pm 10	1.1×10^5	890	2.2	2.5×10^5
Cefazidime	1,500 \pm 400	2.5 \pm 0.5	1.7×10^3	990 \pm 130	23 \pm 2	2.3×10^4	>3,000	ND ^d	ND
Cefpirone	340 \pm 70	3.6 \pm 0.4	1.1×10^4	550 \pm 30	36 \pm 2	6.6×10^4	NP	NP	NP
Cefixitin	810 \pm 70	85 \pm 3	1.1×10^5	NH	NC	NC	— ^e	—	—
Cefminox	370 \pm 70	7.7 \pm 2.0	2.0×10^4	NH	NC	NC	NP	NP	NP
Imipenem	4.7 \pm 0.7	0.38 \pm 0.07	8.1×10^4	NH	NC	NC	0.45	0.004	9.0×10^4
Aztreonam	NH ^f	NC ^g	NC	NH	NC	NC	—	—	—

^a NH, no measurable hydrolysis was detected after 2 h of incubation.

^b NC, not calculated.

^c Data for GES-2 were reported in reference 25.

^d ND, not determined due to very high K_m values.

^e NP, not provided in reference 25.

^f —, not hydrolyzed (the initial rate of hydrolysis was less than $0.001 \mu\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$).

NICUにおける非流行時のMRSA 菌株解析

分担研究者 佐藤 和夫 国立病院機構九州医療センター 小児科医長

研究要旨 新生児集中治療室（NICU）においてメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の流行が終息した後（非流行時）のMRSA 菌株をパルスフィールド電気泳動法（PFGE 法）により解析した。流行時に単一株が連続して集中的に検出されたのに対して、非流行時は異なった複数の菌株が散発的に検出されていた。非流行時の保菌患者の発生は、流行時に認められた保菌児・感染児からの連鎖的水平感染とは異なる原因と考えられた。

研究協力者

金城唯宗 国立病院機構九州医療センター 小児科

清祐麻紀子 同 臨床検査科 細菌・遺伝子検査室

A. 研究目的

平成15年度の報告で、NICUにMRSAが流行した際のMRSA 検出された菌株をパルスフィールド電気泳動法によって解析し、同じタイプの菌株が集中的に検出され、流行がMRSA 保菌児・感染児からの水平感染によって次々と広がっていることが検証された。本年度は、流行終息後散発的に検出されるMRSA 保菌児の菌株を解析することで、MRSA 保菌が散発する原因を分析することを目的とした。

B. 研究方法

MRSA 菌株解析：1999年12月から2004年3月の期間にNICUで検出されたMRSA 菌株（81株）についてパルスフィールド電気泳動法（PFGE 法）による遺伝子解析をおこなった。PFGE 法はGene Path システム（BIO-RAD 社）を使用し、制限酵素はSma I を用い、泳動条件はパルスタイム53～34.9秒、電圧6.0V/cm、泳動時間20時間で行った。

解析にはFingerprinting Plus ソフトウェア（BIO-RAD 社）を使用し、解析で得られた系統樹の80%以上を同一株とし判定した。尚、新たな菌株が加わったためタイプ名は平成15年度とは若干異なっている。

C. 結果

背景となる研究期間の新規MRSA 保菌児およびMRSA 保菌率の推移を図1と図2にそれぞれ示した（平成15年度報告参照）。

2000年7月までの流行は、手袋を中心とした接触感染対策などの院内感染対策施行後完全に終息した。2001年以降は流行は認められず、散発的に月1～2名の保菌児が発生する状況が続いている。

MRSA 菌株解析：

図3および表1に流行時の、図4および表2に非流行時のMRSA 菌株の経時的変化と内訳をそれぞれ示した。

流行時は菌株タイプはDおよびGという単一株が集中的に検出されているのに対して、非流行時は異なった複数の菌株が散発的に検出されていた。但し、間欠的ではあるものの長期間検出される菌株（タイプC）も存在した。

D. 考察