

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)
分担研究報告書

「薬剤耐性菌等に関する研究」班〈JANIS 研究グループ〉
「検査部門サーベイランス」の進捗状況

分担研究者 山口恵三 東邦大学医学部微生物・感染症学講座 教授

研究要旨：

「検査部門サーベイランス」における問題点を明らかにするとともに、その改善を行った。また、2007年7月のJANISにおける集計・解析結果の還元内容および報告方法の改訂を踏まえ、各施設に還元が必要なものを改めて抽出し、それに必要な条件やコード類の作成を行った。「検査部門サーベイランス」における問題点と改善については、平成18年7月6日の「厚生労働省院内感染対策(JANIS)運営支援に関わる打ち合わせ」において、「検査部門サーベイランス」における問題点として、①システムに関する諸問題と、②不合理なデータの取り扱い、を挙げた。システムに関する諸問題には、各種コードの更新、検査部フォーマットの修正、マスター管理の実務担当の決定、集計法の問題点の改善、参加施設への連絡事項の徹底化、があり、それぞれについて改善策を決定し改善を行った。不合理なデータの取り扱いについては、そのデータを提出している施設を特定し、個別に対応することにした。JANIS集計・解析結果の還元内容および報告方法の改訂の支援については、平成18年9月20日に「JANIS事業検査部門のデータ収集項目と還元図表の検討」会議を開催し、月報、季報、年報の構成、図ごとの内容の検討を行った。

研究協力者

藤本修平 (群馬大学大学院医学系研究科・医学部細菌感染制御学)
松本哲哉 (東京医科大学微生物学講座)
長沢光章 (防衛医科大学校附属病院検査部)
古谷信彦 (東邦大学医学部微生物・感染症学講座)

A. 研究目的

院内感染症には、その病院、病棟に一定の頻度で散発的にみられる sporadic、endemic な感染症と突発的に多発する epidemic な感染症がある。sporadic、endemic な感染症は全ての院内感染症の95%を占め、各病院、病棟における頻度が高いか低いかの判断は多数の病院あるいは病棟の平均値、中央値と比較することで明らかとなる。一方、epidemic な感染症は全ての院内感染症の5%を占め、epidemic な感染症が発

生したかどうかはその施設、病院での経時的な推移を把握することで判断することが可能となる。多数の病院、病棟における平均値、中央値を得るために欧米の医療先進諸国ではすでに国内の院内感染の平均的指標となるべきデータを確保するために1970年頃から多くの国で「ナショナルサーベイランス」が実施されている。

このようなことから、わが国においても厚生労働省が主体となって、全国の医療機関において実施されている院内感染対策を支援するために平成12年7月より「院内感染対策サーベイランス」事業を始めている。本事業は全国の200床以上の病院の参加によって実施され、検査部門、全入院患者部門、集中治療部門、新生児集中治療部門、外科手術部位感染部門の5部門で構成されている。本事業ではこれらの5部門でそれぞれの特色を生かしたサーベイランスを行い、院内感染をさまざまな角度から監視しようとして試みている。その中で、検査部門サーベイランスは、検査部で取り扱う全ての検体を対

象としたサーベイランスを行い、全ての病棟、外来で分離された各種細菌の分離頻度と薬剤感受性成績をできるだけ患者背景とともに把握することで新たな耐性菌の出現を早期に検出したり、あるいは抗菌薬の適正使用に役立てようとするものである。事業内容は平成 9 年から 11 年にかけて組織された「薬剤耐性菌感染症のサーベイランスシステム構築に関する研究」班(主任研究者:荒川宜親)における検討を踏まえて作成されている。なお、現時点では検査部で起炎菌と汚染菌(常在菌)の鑑別に関わる項目を収集できる施設が少ないことから事業では起炎性がある程度明らかな血液および髄液分離菌のみがサーベイランスの対象となっている。

今年度は「検査部門サーベイランス」における問題点を明らかにするとともに、その改善を行った。また、2007 年 7 月の JANIS における集計・解析結果の還元内容および報告方法の改訂を踏まえ、各施設に還元が必要なものを改めて抽出し、それに必要な条件やコード類の作成を行った。

B. 研究方法

「検査部門サーベイランス」における問題点と改善については、平成 18 年 7 月 6 日の「厚生労働省院内感染対策(JANIS)運営支援に関わる打ち合わせ」において、「検査部門サーベイランス」における問題点を挙げ、それぞれについて改善策を決定し、実際に改善を行った。不合理なデータの取り扱いでは、初期エラーチェックをすり抜けたデータのうち不合理と思われるものについてはそのデータを提出している施設を特定し、個別に対応することにした。JANIS 集計・解析結果の還元内容および報告方法の改訂の支援については、平成 18 年 9 月 20 日に「JANIS 事業検査部門のデータ収集項目と還元図表の検討」会議を開催し、藤本先生が作成したひな形をもとに月報、季報、年報の構成、図ごとの内容の検討を行った。

C. 研究結果

1. 「検査部門サーベイランス」における問題点

と改善について

厚生労働省院内感染対策(JANIS)運営支援に関わる打ち合わせ」では「検査部門サーベイランス」における問題点として、①システムに関する諸問題と、②不合理なデータの取り扱い、を挙げた。システムに関する諸問題には、各種コードの更新、検査部フォーマットの修正、マスター管理の実務担当の決定、集計法の問題点の改善、参加施設への連絡事項の徹底化、が含まれた(表 1)。更新すべきコードには、細菌コードと抗菌薬コードがあり、前者は長沢先生が、後者は古谷先生が担当した。フォーマットの修正は藤本先生が中心となって作業した。マスターの管理については責任を国立感染症研究所がもち、実際の管理は委託業者が行うことが確認された。集計法の問題点には、①大腸菌にしか設定されていないホスホマイシン(FOM)のブレイクポイントが他の菌にも使用されている、② MRSA と MSSA の集計結果がない、③重複データの排除法が理論的でない、があり、①については、他の菌についても参考として大腸菌にしか設定されていない FOM のブレイクポイントを使用していることを明らかにした。また、②については、MRSA と MSSA を黄色ブドウ球菌として合計して集計していることを明記し、③については、藤本先生が中心となってアルゴリズムの修正を行った。参加施設に徹底しなければならない連絡事項には、ST 合剤の薬剤感受性結果の報告方法と“仕切り記号”の扱いがあり、前者では施設間で統一がとれておらず、「S で代表させて報告している」施設もあれば、「T で代表させて報告している」施設もあったが、「S + T(濃度の合計)で報告する」ように各施設に周知した。後者では、“仕切り記号”としての実測値、その値の大小関係を示す等号、不等号の定義の更新とその周知徹底を図った。その他のシステムに関する問題としては、CLSI(旧 NCCLS)の判定基準が 2006 年に大きく変わったことが挙げられる。検査部門サーベイランスでは、サーベイランスの連続性を保つために、現時点では集計には 2000 年版の NCCLS の基準を引き続き使用し、2007 年 7 月から改訂・実施される JANIS の集計・解析結果の還元内容および報告方法から 2006 年版の CLSI の判定基準を用いることを決定した(表 2)。「不合理なデータの取り扱い」については、2003

年から、開始されたインターネットによる情報の伝達に合わせてデータ提出用 Web サーバーに初期エラーチェックの機能を持たせることで測定あるいは入力ミスを防ぐようにした(図 1)。その結果、それまで問題となっていた *Enterococcus faecalis* の ABPC 感受性と *Streptococcus pneumoniae* の VCM 感受性は諸家の報告とほぼ同様の結果が得られるようになった。しかし、このようなチェック機構を設定しても CTRX に対する感受性報告が諸家の報告と異なる菌種があったり、あるいは VRSA の報告がみられたりなど、チェック機構をすり抜けた異常値があったことが判明した。そこで、これらの異常データについては、提出している施設を特定し、個別に対応することとした。その結果、CTRX については測定施設数、測定株数が少なく、感受性の異常は単一施設からの報告が多かったことによる偏りが原因であることがわかった。以上の理由から、CTRX については信頼性のある解析結果が得られておらず、還元報告からは削除することとした。VRSA については 2005 年の年報、2006 年第 2 期の季報で報告があったが、いずれも入力ミスであることが判明した(表 3)。

2. 「JANIS 集計・解析結果」の報告内容および方法の改訂の支援

研究班 (JANIS 研究グループ)「検査部門サーベイランス」では、還元報告の改訂にあたって、①「主要菌の分離頻度の推移」と「主要菌の菌種別耐性率の推移」、②多剤耐性緑膿菌の分離頻度、③CLSI のブレイクポイントが存在しない抗菌薬の感受性の報告方法、④MRSA、MSSA 別の薬剤感受性、の図表の追加を挙げた。「JANIS 事業検査部門のデータ収集項目と還元図表の検討」会議では、藤本先生が月報、季報、年報についてこれらの内容が盛り込まれたひな形を提示し、構成と図ごとの内容を点検した。その結果、研究班で検討を要する項目として、①一般に公開すべき主要菌の種類と、それぞれの主要菌と抗菌薬の組み合わせの決定、②一般に公開すべき主要耐性菌の決定、③CLSI のブレイクポイントが存在しない抗菌薬の感受性の報告方法、が挙げられた。主要菌については、まず、今までの文献によって院内感染を起

こした 69 菌種を抽出した。それぞれの菌種の薬剤感受性に必要な抗菌薬の種類は、CLSI の判定基準、感受性に関する文献、JANIS に参加している施設での実施数(特定の菌種、特定の抗菌薬の組み合わせで実施された株数)で決定した。さらにこれらの中から、2000 年～2005 年の JANIS の報告をもとに *Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus epidermidis*、*S. pneumoniae*、*E. faecalis*、*Enterococcus faecium*、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Enterobacter* spp.、*Serratia marcescens*、*Pseudomonas aeruginosa* の 10 菌種を公開すべき菌種と定め、それぞれの菌種について感受性を報告しなければならない薬剤を 9～12 種類まで絞り込んだ(図 2)。

一般に公開すべき主要耐性菌については、まず、感染症法で 5 類感染症の原因となるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(methicillin-resistant *S. aureus*; MRSA)、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(Vancomycin-resistant *S. aureus*; VRSA)、バンコマイシン耐性腸球菌(Vancomycin-resistant *Enterococcus*; VRE)、ペニシリン耐性肺炎球菌(penicillin-resistant *S. pneumoniae*; PRSP)、多剤耐性緑膿菌(multidrug-resistant *P. aeruginosa*)を選択した。それ以外の主要耐性菌については、現在、NNIS で報告されている菌種と、東邦大学医学部微生物・感染症学講座および国立感染症研究所細菌第二部でそれぞれ決定した菌種の中からカルバペネム耐性緑膿菌(carbapenems-resistant *P. aeruginosa*)、第三世代セフェム耐性大腸菌(third-generation cephalosporins-resistant *E. coli*)、第三世代セフェム耐性肺炎桿菌(third-generation cephalosporins-resistant *K. pneumoniae*)、ニューキノロン耐性大腸菌(new quinolones-resistant *E. coli*)、多剤耐性アシネトバクター(multidrug-resistant *Acinetobacter*)の 5 菌種選択した(図 3)。

CLSI のブレイクポイントが存在しない抗菌薬の感受性については、事業参加の施設によって「薬剤濃度の仕切り法」が異なるので、全施設の「薬剤濃度の仕切り」を満足させる表を作成し、そこに菌株数を示すことで対応した(図 4)。

D. 考察

今年度の研究班では、「検査部門サーベイランス」における問題点の抽出とその改善、および2007年7月より開始予定となっている集計・解析結果の内容・還元方法の検討を行った。「検査部門サーベイランス」における問題点には、事業開始から6年経過したことによって改良が必要となったもの、事業開始時から依然として積み残されてきたもの、連絡の不徹底によるものがあった。これらの問題点に対しては「厚生労働省院内感染対策(JANIS)運営支援に関わる打ち合わせ」で解決策を定め、実行した。その中でNCCLS(現CLSI)の判定基準についての問題だけは、判定基準を安易に変更することはサーベイランスの連続性を損なうのではないかという意見もあり、2007年7月の還元情報の改訂までは2000年のNCCLSの判定基準を引き続き使用し、2006年のCLSIの判定基準は改訂と同時に使用することとした。なお、不合理なデータの取り扱いについては、初期エラーチェックで排除されずに集計されたデータは提出施設に対して照会することになっていたが、今まで実施されていなかった。今年度からは研究班が定期的に季報・年報検討会議を開催するようになり、その中で照会がスムーズに行われるようになったので、CTR_Xの薬剤感受性の偏りやVISAの報告が入力ミスであったことなどが判明した。これらの照会体制は今後も継続していく必要があると思われた。

解析結果の内容・還元方法については、①情報量が多すぎて、必要な情報を得るのに時間がかかる、②各医療機関のデータの収集から集計・解析結果の還元まで時間がかかりすぎる、③集計・解析が自施設、全施設に分けて、あるいは月、季、年毎に分けて報告されているので、自施設の経時的比較、全施設合計との比較に時間がかかる、という問題があった。すなわち、epidemicな感染症の発生を把握することが困難であるだけでなく、endemic、sporadicな感染症が多いのか少ないのかの評価も難しい状況にあった。今回の改訂では、還元内容をコンパクトにして、一般公開用では、主要菌の分離患者数(分離率)、特定の耐性菌の分離患者数(分離率)、主要菌種、特定の耐性菌の分離患者の推移、

主要菌種の抗菌薬感受性(感染率)、主要菌種、主要耐性菌の病棟別分離患者数、主要菌種、主要耐性菌の検査材料別分離患者数、分離菌の耐性パターン、MIC分布について報告することにした。研究班では、主要菌の種類と、その主要菌の感受性検査として報告が必要とみなされる抗菌薬の組み合わせを決定した。実際に報告すべき主要菌は10菌種であるが、研究班では69菌種について報告できるように組み合わせを決定した。また、主要な耐性菌についても25菌種をあげている。このように菌種と抗菌薬の組み合わせや主要な耐性菌を還元報告に掲載するもの以上に監視していくことで、予想外の菌種による感染症のアウトブレイクや耐性菌の拡がりについても迅速に対応できる体制を整えることが可能になったと考えられる。

E. 結論

「検査部門サーベイランス」における問題点の抽出とその改善、および2007年7月より開始予定となっている集計・解析結果の内容・還元方法の検討を行った。「検査部門サーベイランス」における問題点については、全ての点が改善された。集計・解析結果の内容・還元方法の検討では、2007年7月の還元報告の改訂に向けて、主要菌の種類と感受性検査として必要な薬剤の組み合わせ、および主要耐性菌の種類を決定した。今回の検討によって、「検査部門サーベイランス」は各医療機関で実施される院内感染対策の支援がよりいっそう効果的に実施できるものとなったと考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Saito A, Kohno S, Matsushima T, et al.: Prospective multicenter study of the causative organisms of community-acquired pneumonia in adults in Japan. *J Infect Chemother* 12:63-69, 2006.

- 2)Ishii Y, Jimena Alba, Kimura S, Yamaguchi K: Evaluation of antimicrobial activity of β -lactam antibiotics by E test against clinical isolates from 100 medical centers in Japan(2004). *Diagn Microbiol and Infect Dis* 55:143-148, 2006.
- 3)山口恵三、古谷信彦、熊本悦明ほか 28 名: 尿路感染症分離菌に対する経口ならびに注射用抗菌薬の抗菌力比較(第 26 報 2004 年). *Jpn J Antibiot* 59:217-315, 2006.
- 4)Saha S, Takeshita F, Sasaki S, et al.: Multivalent DNA vaccine protects mice against pulmonary infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Vaccine* 24:6240-6249, 2006.
- 5)Miyairi S, Tateda K, Fuse TE, et al.: Immunization with 3-oxododecanoyl-L-homoserine lactone-protein conjugate protects mice from lethal *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *JMM* 55:1381-1387, 2006.

2. 学会発表

- 1)古谷信彦、山口恵三、藤本修平ほか 3 名: 改訂版 JANIS 報告書による東邦大学医療センター大森病院の検査部サーベイランス、第 18 回日本臨床微生物学会、2007.2.17、長崎.
- 2)古谷信彦、山口恵三、藤本修平ほか 3 名: 改訂版 JANIS 報告書による東邦大学医療センター大森病院の検査部門サーベイランス、第 22 回日本環境感染学会総会、2007.2.24、横浜.
- 3)古谷信彦: JANIS 検査部門サーベイランスについて. IT 化時代における病院感染対策(ICD 講習会)、第 22 回日本環境感染学会総会、2007.2.24、横浜.

H. 知的所有権

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1. 「検査部門サーベイランス」事業の支援

1) システムに関する問題点の対応

- ① JANIS各種コードの更新
- ② JANIS検査部門フォーマットの更新
- ③ マスター管理の業務担当の決定
- ④ 集計法に関する問題点の対応
- ⑤ 参加施設への連絡が滞っている事項
- ⑥ NCCLS(CLSI)の判定基準の更新

2) 不合理なデータの排除

表2. システムに関する問題点の対応

1. JANIS各種コードの更新

細菌コード(東沢先生)、抗菌薬コード(古谷先生)

2. JANIS検査部門フォーマットの更新

フォーマットにみられている問題点の修正 藤本先生が修正版を作成

3. マスター管理の業務担当

マスター管理の責任 → 感染研、業務の管理 → 委託業者

4. 集計法の問題点と対応

① FOMのプレイクポイントは、大腸菌のみに設定されているが、参考として他の菌にも使用したことを明らかにする

② MRSAとMSSAは、黄色ブドウ球菌として集計していることを明らかにする

③ 重複排除のアルゴリズムを修正する 藤本先生が作成

5. 参加施設への連絡事項の徹底
ST合剤の報告方法(S, Tの各針を用いる)、不等身の報告法、について厚生労働省から報告して頂く

6. NCCLS (CLSI) の判定基準の更新

サーベイランスの連続性を保つため、集計には2000年版を引き継ぎ使用する

図1. 不合理なデータの取り扱いについて

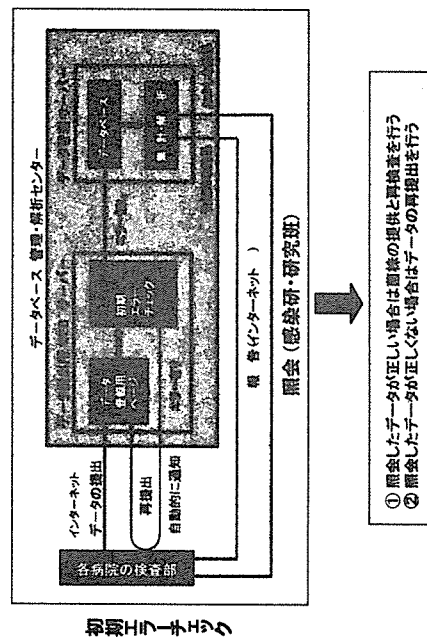


表3. 不合理なデータの排除

【既修正】

1. *Enterococcus faecalis* のABPC感受性
2. *Streptococcus pneumoniae* のVCM感受性

【未確認・未修正】

1. *Streptococcus pneumoniae* のCTRX感受性
耐性株の頻度が11~30%と著しく高いことがある(文献では0~3.4% (10文献))
2. *Escherichia coli* のCTRX感受性
3. *Serratia marcescens* のCTRX感受性
4. SIRで報告されているものにVRSAが1株あった

1~4については異常データを提出している施設を特定し、対応する

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

集中治療室（ICU）内感染環境
～感染患者の同室と院内感染の発生の関係～

分担研究者 吉田勝美 聖マリアンナ医科大学予防医学教室 教授

研究要旨： 従来の報告にある内部要因と外部要因にくわえ、患者を取り巻く環境として同室の感染患者の存在もまた感染の発生の影響しうると考えられる。本研究では、集中治療室（ICU）内感染環境として（1）各日あたりの在室患者の感染状況、（2）感染直前の同室患者の感染状況を調べた。感染患者がゼロである日数は最大の施設でも30.9%であり、10%以下という施設もみられた。ICU内感染前2日間に感染患者が同室していた割合は最少の施設でも68.9%であり、90%以上という施設もみられた。ICUは日常的に感染患者が在室している状況であり、二次感染防止策の重要性が再認識された。

研究協力者：須賀万智
（聖マリアンナ医科大学予防医学教室）

A. 研究目的

院内感染の高リスクエリアである集中治療室（ICU）について、厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）のデータベースを用いて、院内感染のリスク要因を検討してきた[1,2]。院内感染のリスク要因は年齢、基礎疾患、免疫状態などの内部（患者）要因とデバイス、手術、スタッフ、施設などの外部（環境）要因からなる[3]。外部要因は必要な対策を講じることで改善しうるものを多く含み、平成16年度のICU施設調査から、定時回診やカンファレンスの開催、血液浄化管理指針や抗生物質予防投与の取り決め、使用機材の個別化、ガーゼ交換時手袋着用、などが感染リスク軽減につながる可能性が示された[2]。

患者を取り巻く環境として、同室の感染患者の存在もまた感染の発生の影響しうると考えられる。持ち込み感染を含めて感染患者が同室することは感染源が身近にあることを意味する。しかし、これまで、感染

患者の同室と院内感染の発生の関係を調べた研究は報告されていない。本研究では、JANISのデータベースを用いて、ICU内感染環境として（1）各日あたりの在室患者の感染状況、（2）感染直前の同室患者の感染状況を調べた。

B. 研究方法

2002年7月～2004年12月、ほぼ一定の患者登録を得られた8施設を対象にして、施設ごとに以下の解析を実施した。

（1）各日あたりの在室患者の感染状況

観察期間中（915日間）の各日の在室患者の感染の有無を調べ、感染患者が在室した割合を求めた。

（2）感染直前の同室患者の感染状況

ICU内感染率を対1000人日あたりで計算した。ICU内感染患者ごとに感染診断日直前2日間の同室患者の感染の有無を調べ、感染患者が同室した割合を求めた。さらに起因菌がMRSAであるものに限定して同様の解析を実施した。

なお、ICU内感染はICU入室2日目以降の感染症として定義した。統計学的解析はSAS version 8.2を使用した。

C. 研究結果

表1は8施設の在室患者状況である。観察期間中の患者登録数は最少の施設で840人、最多の施設で1494人であり、平均在室日数は最短の施設で5.1日、最長の施設で8.1日であった。平均在室患者数は最少の施設で6.0人/日、最多の施設で19.5人/日であり、各施設とも満床に近い状態であった。感染患者は各日の在室患者のうち最少の施設で平均4.3%、最多の施設で平均31.8%みられ、感染患者がゼロである日数は最少の施設で24日(2.6%)、最多の施設で283日(30.9%)であった。

表2は8施設の院内感染発生状況である。ICU内感染率は最小の施設で3.3/1000人日、最大の施設で28.4/1000人日であった。ICU内感染前2日間に感染患者が同室していた割合は最少の施設で68.9%、最多の施設で96.9%であり、8施設中7施設で70%以上であった。ICU内MRSA感染率は最小の施設で1.0/1000人日、最大の施設で9.3/1000人日であった。ICU内MRSA感染直前2日間にMRSA感染患者が同室していた割合は最少の施設で18.2%、最多の施設で85.3%であり、8施設中5施設で50%未満であった。

エコロジカル研究の視点から、在室日数とICU内感染率、各日あたりの在室患者数とICU内感染率、各日あたりの感染患者数(またはその割合)とICU内感染率、感染患者がゼロである日数(またはその割合)とICU内感染率の相関を調べたが、いずれも有意な関係を認めなかった。

D. 考察

本研究では、ほぼ一定の患者登録を得られた8施設を対象にして、感染患者の同室と院内感染の発生の関係を調べた。

ICU内感染環境として、各日あたりの在室患者の感染状況を調べたところ、各日あたりの感染患者数、感染患者がゼロである日数、ともに施設間の大きなバラツキを認

めた。感染患者がゼロである日数は最多の施設でも30.9%であり、10%以下という施設もみられた。ICUは日常的に感染患者が在室している状況であることが数値上からも確認された。

感染直前の同室患者の感染状況を調べたところ、ICU内感染前2日間に感染患者が同室していた割合は最少の施設でも68.9%であり、90%という施設もみられたが、特定の菌種(MRSA)に限定してみると、大半の施設で50%未満であった。つまり、感染源になりうる感染患者が同室していた例は少なくないが、実際、その患者から二次感染したかは不明である。症例ごとに菌種をトレースすれば明らかになるが、残念ながら、そのようなデータは収集されていない。ただし、頻度としては少ないにしても、二次感染の危険性をはらむ状況であることはたしかであり、二次感染防止策の重要性が再認識された。

今後の課題として、各日あたりの感染患者数あるいは感染患者がゼロである日数が多い施設と少ない施設のちがいはなにかを追究することが院内感染防止策を検討する一助になると期待される。

E. 参考文献

1. 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.
2. 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; 20: 24-30.
3. Nosocomial infection rates for interhospital comparison: limitations and possible solutions. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1991; 12: 609-621.

表 1 8施設の在室患者状況

	A	B	C	D	E	F	G	H
登録数20床	6	6	20	10	8	8	8	20
観望期患者数	867	840	3563	1437	1375	1494	1358	1012
在室数	平均標置 6.4±8.0	7.1±5.1	5.1±0.8	5.4±7.3	5.1±8.1	5.1±5.7	5.9±4.8	8.1±3.4
(日)	中値 4	4	3	4	3	3	2	4
	分幅 1~28	1~88	1~37	1~9	1~25	1~5	1~67	1~66
各病棟の 在室数	平均標置 6.0±1.5	6.4±1.4	19.5±3.2	8.4±2.3	7.8±2.4	8.2±2.1	8.3±1.5	8.4±1.9
(人)	中値 6	6	20	8	8	8	8	9
	分幅 1~9	3~1	8~2	1~5	1~6	2~4	3~3	3~4
各病棟の 感染数	平均標置 1.1±1.0	1.4±1.0	1.6±1.3	1.4±1.0	1.5±1.3	1.2±1.0	2.4±1.3	2.9±1.5
(人)	中値 1	1	1	1	1	1	2	3
	分幅 0~5	0~5	0~7	0~5	0~6	0~5	0~7	0~8
各病棟の 感染割合	平均標置 16.6±7.0	18.8±6.0	4.3±6.4	14.6±2.2	16.8±5.5	12.2±0.9	25.7±6.1	31.8±8.3
(%)	中値 10	10	0	10	10	10	20	30
	分幅 0~80	0~8	0~8	0~8	0~80	0~8	0~8	0~80
感染患者数	283日 (9.%)	174日 (9.%)	167日 (8.%)	157日 (7.%)	211日 (2.%)	248日 (2.%)	52日 (5%)	24日 (2%)

表 2 8施設の院内感染発生状況

	A	B	C	D	E	F	G	H
ICU内感染数	158	61	60	90	48	103	60	129
感染率00因	28.4	10.3	3.3	11.6	6.8	13.6	7.5	15.7
ICU内感染前回の 感染割合	74.7%	75.4%	83.3%	81.1%	85.4%	68.9%	91.7%	96.9%
ICU内MRSA感染数	52	11	18	28	22	36	34	35
感染率00因	9.3	1.9	1.0	3.6	3.1	4.8	4.3	4.3
ICU内MRSA感染前回の MRSA感染割合	42.3%	18.2%	44.4%	48.1%	63.6%	30.6%	85.3%	68.6%

F.研究発表

1.論文発表

- ① Suka M, Yoshida K, Takezawa J. A practical tool to assess the incidence of nosocomial infection in Japanese intensive care units: the Japanese Nosocomial Infection Surveillance System. J Hosp Inf 2006; 63: 179-184.
- ② Suka M, Yoshida K, Takezawa J. Incidence and outcomes of sepsis in Japanese intensive care units: the Japanese Nosocomial Infection Surveillance System. Environ Health Prev Med 2006; 11: 298-303.
- ③ Suka M, Yoshida K, Uno H, Takezawa J. Incidence and outcomes of ventilator-associated pneumonia in Japanese intensive care units: the Japanese Nosocomial Infection Surveillance System. Inf Cont Hosp Epidemiol 2006 (印刷中)

2.学会発表

- ① Suka M, Yoshida K, Takezawa J. Outcome of sepsis in Japanese intensive care units: the Japanese Nosocomial Infection Surveillance System. International Conference of the Hospital Infection Society (2006)
- ② 須賀万智, 吉田勝美, 武澤純. JANIS データからみた ICU 内感染環境-感染患者の同室と ICU 内感染の発生の関係. 第 22 回環境感染学会 (2007)

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

薬剤耐性菌等に関する研究班
バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）に関する研究

分担研究者 池 康嘉 群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座
細菌感染制御学、同 薬剤耐性菌実験施設

研究要旨

我が国で分離された 23 株の VanA 型 VRE のうち、Van A 型 *E.faecium* 15 株のバンコマイシン耐性トランスポゾン Tn1546 (*vanA*) の構造解析及び宿主菌のゲノム解析を行った。VRE 染色体 DNA の *Sma*I 断片の PFGE(Pulsed field gel electrophoresis)から 15 株の VRE は異なる 11 の型に分類された。Tn1546 の構造解析から、EU、韓国、中国等の VRE で報告にある ORF2-*vanR*、*vanS-vanH* 及び *vanX-vanY* 間の non coding region に IS1216 V、IS1542、IS1251 が挿入された Tn1546 型と、これとは別に、IS256 が挿入された株が分離された。タイ型 VanA VRE の Tn1546 は VanS に変異が存在する以外は prototype の Tn1546 と同一構造であった。VanA 型 *E.faecium* 15 株の MLST 解析によるゲノムタイピングでは、12 株は ST17 株に代表され主に院内感染 VRE 株として分離される clone complex 17(CC17)の ST 型グループに分類された。他の 3 株 (JHP19, 21, 23) は、主に鶏から分離される *E.faecium* の ST 型グループに分類された。この中で JHP23 株の Tn1546 型は、タイ産鶏肉から分離される VanA VRE の Tn1546 型と同じ構造をしていた。

研究協力者：

野村 隆浩¹、富田 治芳¹、谷本 弘一²、藤本 修平¹井上 貴子¹、荒川 宜親³
群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座
細菌感染制御学¹、群馬大学大学院医学系研究科 附属薬剤耐性菌実験施設²、国立感染症研究所 細菌第二部³

A. 研究目的

先に行った VRE の分離状況の全国調査において、VanA 型または VanB 型 VRE は 1,778 (医療関連) 施設のうち 31 施設 (1.7%) で分離された。VRE 型は、VanA 型が 14 施設、VanB 型が 15 施設、VanA および VanB 型が 1 施設、VanD 型が 1 施設から、それぞれ分離された。VRE が分離された全症例数は 128 例である。VanA 型は 71 例 (55%)、VanB 型は 56 例 (44%)、VanD 型は 1 例 (1%) から分離された。VRE が分離された 31 施設のうち、19 施設から合計 81 株の VRE が分与された。19 施設の中で、9 施設の 19 人から合計 23 株の VanA 型 VRE が分離されていた。今回

は我が国で分離された 23 株の VanA 型 VRE のうち 15 株の VanA 型 *E.faecium* の VanA 遺伝子構造の特性及びゲノム特異性を解析する目的で VanA 型バンコマイシン耐性トランスポゾン Tn1546 の構造解析と VanA 型 *E.faecium* の染色体 DNA のゲノム解析を行った。

B. 研究方法

材料および方法

培地：VRE の培地は Todd Hewitt broth (THB)(Difco)、及び Todd Hewitt broth agar を用いた。薬剤感受性は Mueller Hinton broth 及びその寒天培地を用い、寒天平板希釈法を用い NCCLS 標準法に従った。

PCR 方法、Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)、Plasmid DNA の分離と解析、Agarose gel electrophoresis 等は概報の方法を用いた。

VanA 型 VRE の決定は、PCR を用いて行った。VCM と TEIC の MIC は平板希釈法を用いた。Tn1546 の構造解析はクラスターごとの PCR を行い、PCR 産物の直接シーケンスにより、全塩基配列を決定した。*E.faecium* の

MLST は、7 種類の housekeeping 遺伝子 *atpA*、*ddl*、*gdh*、*purK*、*gyd*、*pstS*、*adk* (下記) の PCR 産物を直接シーケンスすることにより塩基配列を決定した。この決定した塩基配列をウェブサイト (<http://efaecium.mlst.net/>) のデータベースにて ST 型の決定を行った。[*adk* ; adenylate kinase, *atpA*; ATP synthase alpha subunit, *ddl*; D-alanine-D-alanine ligase, *gyd*; glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, *gdh*; glucose-6-phosphate dehydrogenase, *purK*; phosphoribosyl aminoimidazole carboxylase ATPase subunit, *pstS*; phosphate ATP-binding cassette transporter]

C. 研究結果

1) 用いた VanA 型 VRE

23 株 VanA 型 VRE は 9 医療施設の 19 人の患者から分離された (表 1)。菌種は *E.faecium* 菌 15 株、*E.faecalis* 菌 7 株、*E.avium* 菌 1 株である。タイ産輸入鶏肉より分離される VanA 型 VRE の VanA 遺伝子には、VanS 蛋白 (グリコペプチドのセンサー蛋白) の 3ヶ所にアミノ酸変異が存在する。これと同様の変異が存在する株が 8 株 (*E.faecalis* 5 株、*E.faecium* 2 株、*E.avium* 1 株) あった。

2) Van A 型 *E.faecium* VRE の染色体型

15 株の VRE 染色体 DNA の *SmaI* 断片の Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) 解析から、15 株の VRE は 11 の異なる型に分類された (図 1)。

3) Van A 型トランスポゾン Tn1546 の構造解析

Van A 型トランスポゾン Tn1546 は Van 遺伝子群の中の non coding region に IS の挿入が存在することがある。Van A 型 *E.faecium* VRE 15 株の Tn1546 の全塩基配列を決定し、構造解析を行った。方法は Tn1546 内の異なる DNA 領

域の各 PCR 産物の塩基配列を決定した。15 株の Van A 型 VRE において 7 種 (A 型~G 型) の異なる Tn1546 型が存在した (図 2)。A 型は Tn1546 の *vanR* 内の 4318 番目の塩基 G が A に変異し、VanR のアミノ酸 A115 が T に変異したものであった。B 型は VanS に L50V、E54Q、Q69H の 3 つのアミノ酸置換があった。C 型は B 型の変異に加え、5063 番目の塩基 C が T に変異し、その結果 VanS のアミノ酸 R139 が W に置換していた。D 型は *vanR* 上流の non coding region の 3925bp の位置に IS256 の挿入があり、Tn1546 の 3925bp の位置から上流領域の欠損があった。E 型は *vanR* 上流の non coding region 内の 3915bp 位置に IS1216V の挿入と、この IS1216V の 5' 側に IS1542 の部分的な挿入があり、これらの挿入位置上流域の Tn1546 の欠損があった。また *vanX-vanY* 間の non coding region に IS1216V の挿入があり、この IS1216V の 662 番目の塩基 T が C に変異していた。F 型は Tn1546 の 1bp から 889bp までの欠損があり、欠損部分から上流 736bp の位置に IS1216V の挿入があり、*vanS-vanH* 及び *vanX-vanY* 間の non coding region にそれぞれ IS1251 及び IS1216V の挿入があった。G 型は F 型と同様の 889bp の欠損と、欠損部分から上流 736bp の位置に IS1216V の挿入、さらに *vanS-vanH* 間の non coding region に IS1251 の挿入があった。Tn1546 の *vanY* 内 9692 番目の塩基 C が T に変異し、VanY のアミノ酸 P214 が L に置換していた。

4) *E.faecium* の MLST (Multi Locus Sequence Typing) を用いたゲノムタイピング

VanA 型 VRE 23 株のうち、*E.faecium* 15 株について、MLST によるゲノム解析を行った (表 2、図 3)。報告されている *E.faecium* の MLST の 7 個の遺伝子について、その PCR 産物の塩基配列を決定した。15 株のうち 12 株は *E.faecium* のゲノムタイプで、ST17 型に代表されるグループ (CC17) に分類された。残りの 3

株 (JHP19, 21, 23) はトリから主に分離される *E. faecium* のゲノムのグループに分類された。このうち JHP23 は Tn1546 の VanS のアミノ酸 3ヶ所に変異が存在する株 (B型に分類) で、タイ産鶏肉から分離される VanA 型 VRE の Tn1546 と同じ構造であった。

D. 考 察

Tn1546 (VanA) 型トランスポゾンの遺伝子群の non coding region に IS1216V, IS1251, IS1542 が挿入された変異株が存在した。これらの IS は ORF1 の上流、ORF2-*vanR*、*vanS-vanH*、及び *vanX-vanY* 間の non coding region に挿入されている。このような Tn1546 の IS 挿入変異型の株は、EU 各国、韓国等の VanA 型 VRE の Tn1546 型トランスポゾンにおいて見ついている。今回の解析で Tn1546 型トランスポゾンの *vanR* の上流に IS256 が挿入された株が新たに見つかった。この IS256 が挿入された Tn1546 型トランスポゾンはこれまでの報告には無く、日本の VanA 型 VRE に特異的なものである。

日本の臨床分離 VanA 型 VRE の Tn1546 型トランスポゾンにおいて、VanS 内の 3ヶ所にアミノ酸変異が存在するものが多く分離された (B型に分類)。この型の Tn1546 はタイ産鶏肉由来 VanA 型 VRE の Tn1546 型トランスポゾンに存在する変異と同じものである。この型の Tn1546 は VanS の変異以外は IS の挿入や欠損等が存在せず、プロトタイプの Tn1546 構造が保存されていることが特徴であった。これらのことは家畜由来 Tn1546 型トランスポゾンが鶏肉を介して人に伝播する一つの証拠である。

今回の VanA 型 *E. faecium* のゲノム解析において、15 株中 12 株は諸外国での臨床分離 VanA 型 *E. faecium* 菌の多くの報告と同じゲノム型グループ (clone complex 17; CC17) に属していた。残りの 3 株は家畜 (鶏肉) 由来 VanA 型 *E. faecium* のゲノム型のグループに属していた。この 3 株中

の 1 株、JHP23 の Tn1546 は、タイ産鶏肉由来 VRE の Tn1546 と同じ型 (B 型) のトランスポゾンであった。このことは、家畜由来 VanA 型 VRE が鶏肉を介して直接人にコロナイゼーションしている可能性が推測されるものである。

E. 結 論

日本で分離された臨床分離 15 株の VanA 型トランスポゾン Tn1546 (VanA) の構造解析で、報告のある Tn1546 の遺伝子群の non coding region への IS1216V, IS1542, IS1251 の挿入の他に、IS256 の挿入されたものが見つかった。また、染色体 DNA の MLST によるゲノム解析で、12 株は臨床分離株 *E. faecium* のグループ (CC17) に含まれたが、他の 3 株はトリ分離 *E. faecium* のグループに含まれた。これらの結果は、日本の VRE のレファランストトリ VRE の人への伝播を示唆するものである。

F. 健康危険情報

腸球菌は日和見感染菌で健常者に感染症を起こすことは無い。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Todokoro D, Tomita H, Inoue T, Ike Y. Genetic analysis of bacteriocin 43 of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:6955-6964.(2006)

2. Lim SK, Tanimoto K, Tomita H, Ike Y. Pheromone-responsive conjugative vancomycin resistance plasmids in *Enterococcus faecalis* isolates from human and chicken feces. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:6544-6553.(2006)

3. 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.* 50:3966-3967.(2006)

4. Inoue T, Tomita H, Ike Y. Bac 32, a novel bacteriocin widely disseminated among clinical isolates of *Enterococcus faecium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50:1202-1212. (2006)

5. Sakyo S, Tomita H, Tanimoto K, Fujimoto S, **Ike Y**. Potency of carbapenems for the prevention of carbapenem-resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antibiot.* 59:220-228. (2006)

6. Shin E, Hong HG, **Ike Y**, Lee K, Park YH, Lee DT, Lee Y. VanB-vanA incongruent VRE isolated from animals and humans in 1999. *J. Microbiol.* 44:453-456. (2006)

7. Jung EK, Hong SK, Lim JY, Lim SK, Kwon NH, Kim JM, Koo HC, Kim SH, Seo KS, **Ike Y**, Tanimoto K, Park YH. Phenotypic and genetic characterization of vancomycin-resistant enterococci from hospitalized humans and from poultry in Korea. *FEMS Microbiol. Lett.* 260:193-200. (2006)

2. 特許出願

なし

3. 実用新案登録、その他

なし

表1. 日本の臨床分離 VanA 型 *E. faecium* VRE

病院	Strain	検出病院	患者 No.	菌種	VRE型 (PCR)	MIC(μ g/ml)		VanS
						VCM	TEIC	
1	JHP 9	D	①	<i>E. faecium</i>	VanA	1024	128	Prototype
	JHP 10	D	②	<i>E. faecium</i>	VanA	1024	128	Prototype
2	JHP 14	F	③	<i>E. faecium</i>	VanA	1024	1	L50V,E54Q,Q69H
	JHP 15	F	④	<i>E. faecalis</i>	VanA	1024	256	L50V,E54Q,Q69H
3	JHP 16	G	⑤	<i>E. faecalis</i>	VanA	512	4	L50V,E54Q,Q69H
	JHP 17	G	⑤	<i>E. faecalis</i>	VanA	512	4	L50V,E54Q,Q69H
	JHP 18	G	⑤	<i>E. faecalis</i>	VanA	512	2	L50V,E54Q,Q69H
4	JHP 19	H	⑥	<i>E. faecium</i>	VanA	512	64	Prototype
	JHP 21	I	⑦	<i>E. faecium</i>	VanA	256	32	Prototype
5	JHP 22	I	⑧	<i>E. avium</i>	VanA	128	1	L50V,E54Q,Q69H
	JHP 23	I	⑧	<i>E. faecium</i>	VanA	256	0.5	L50V,E54Q,Q69H
6	JHP 24	J	⑨	<i>E. faecalis</i>	VanA	1024	8	L50V,E54Q,Q69H
7	JHP 28	L	⑩	<i>E. faecium</i>	VanA	512	32	Prototype
	JHP 29	L	⑩	<i>E. faecium</i>	VanA	256	8	Prototype
8	JHP 30	M	⑪	<i>E. faecalis</i>	VanA	1024	256	Prototype
	JHP 31	M	⑫	<i>E. faecalis</i>	VanA	1024	256	Prototype
9	JHP 33	N	⑬	<i>E. faecium</i>	VanA	1024	64	Prototype
	JHP 34	N	⑭	<i>E. faecium</i>	VanA	1024	32	Prototype
	JHP 35	N	⑮	<i>E. faecium</i>	VanA	1024	16	Prototype
	JHP 36	N	⑯	<i>E. faecium</i>	VanA	1024	128	Prototype
	JHP 37	N	⑰	<i>E. faecium</i>	VanA	1024	32	Prototype
	JHP 38	N	⑱	<i>E. faecium</i>	VanA	1024	128	Prototype
	JHP 39	N	⑲	<i>E. faecium</i>	VanA	1024	32	Prototype

表2. 日本の臨床分離 VanA 型 *E. faecium* VRE 15株の MLST 解析

strain No.	Hospital	Species	MLST(Allelic profile)							ST	CC	Group
			<i>atpA</i>	<i>ddl</i>	<i>gdh</i>	<i>purK</i>	<i>gyd</i>	<i>pstS</i>	<i>adk</i>			
JHP9	D	<i>E. faecium</i>	1	2	1	1	1	1	1	16	17	Hospital
JHP10	D	<i>E. faecium</i>	1	2	1	1	1	1	1	16	17	Hospital
JHP14	F	<i>E. faecium</i>	1	1	1	1	1	1	1	17	17	Hospital
JHP19	H	<i>E. faecium</i>	9	2	1	1	1	1	1	154	20	Poultry
JHP21	I	<i>E. faecium</i>	5	1	1	1	8	1	1	20'	20	Poultry
JHP23	I	<i>E. faecium</i>	5	3	6n	3	1	1	1	12'	235	Poultry
JHP28	L	<i>E. faecium</i>	15	1	1	1	1	20	1	203	17	Hospital
JHP29	L	<i>E. faecium</i>	15	1	1	1	1	20	1	203	17	Hospital
JHP33	N	<i>E. faecium</i>	3	1	1	1	1	1	1	205	17	Hospital
JHP34	N	<i>E. faecium</i>	3	1	1	1	1	1	1	205	17	Hospital
JHP35	N	<i>E. faecium</i>	3	1	1	1	1	1	1	205	17	Hospital
JHP36	N	<i>E. faecium</i>	3	1	1	1	1	1	1	205	17	Hospital
JHP37	N	<i>E. faecium</i>	3	1	1	1	1	1	1	205	17	Hospital
JHP38	N	<i>E. faecium</i>	3	1	1	1	1	1	1	205	17	Hospital
JHP39	N	<i>E. faecium</i>	3	1	1	1	1	1	1	205	17	Hospital
F1	(フランス鶏肉)	<i>E. faecium</i>	3	2	1	6	1	7	1	8'	165	Poultry
F2	(フランス鶏肉)	<i>E. faecium</i>	5	2	1	6	1	7	1	8	165	Poultry

図2. 日本の臨床分離 VanA 型 *E. faecium* VRE 株の Tn1546 の構造

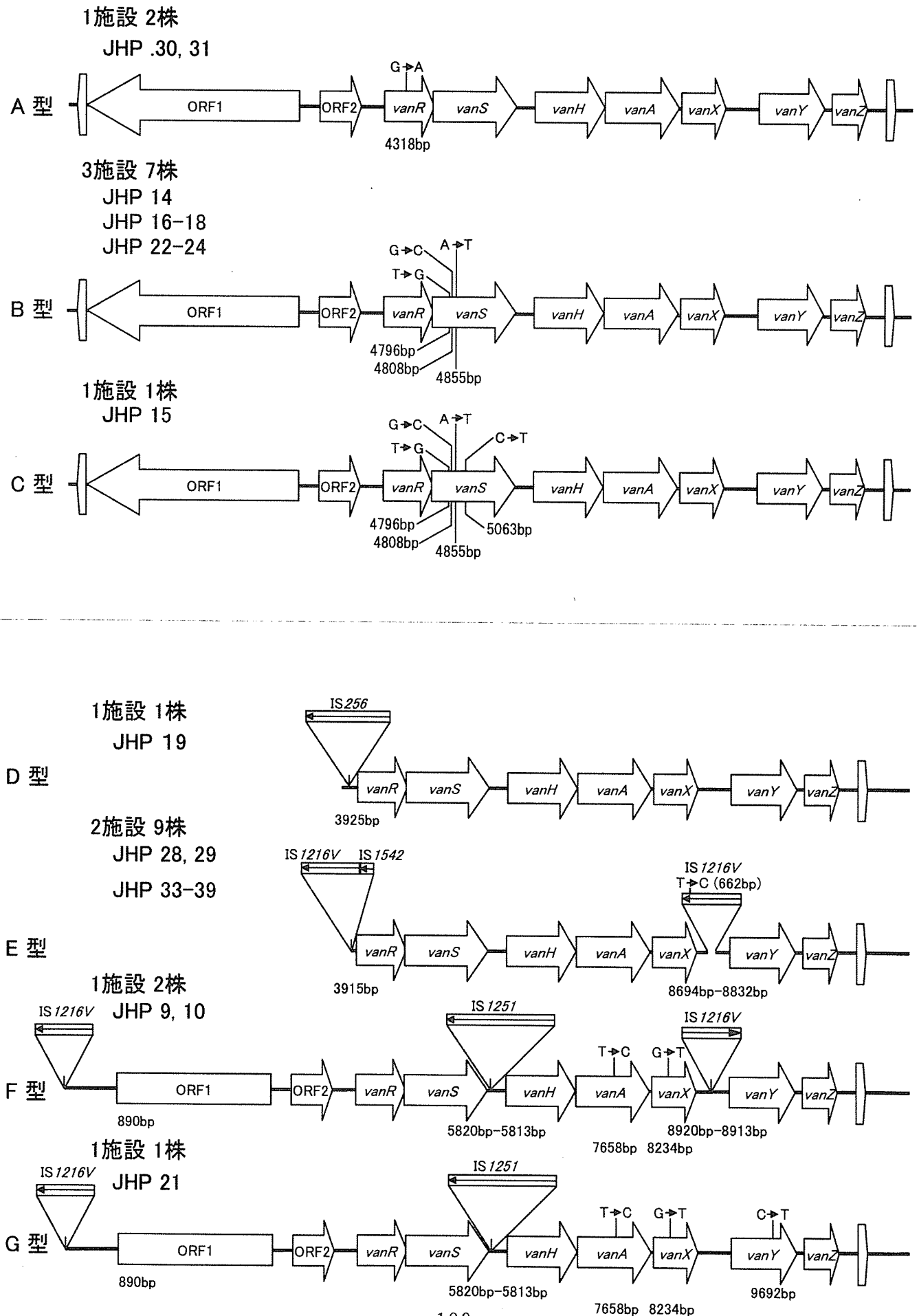


図1. VanA型VREのPFGE (*Sma* Iにて消化)

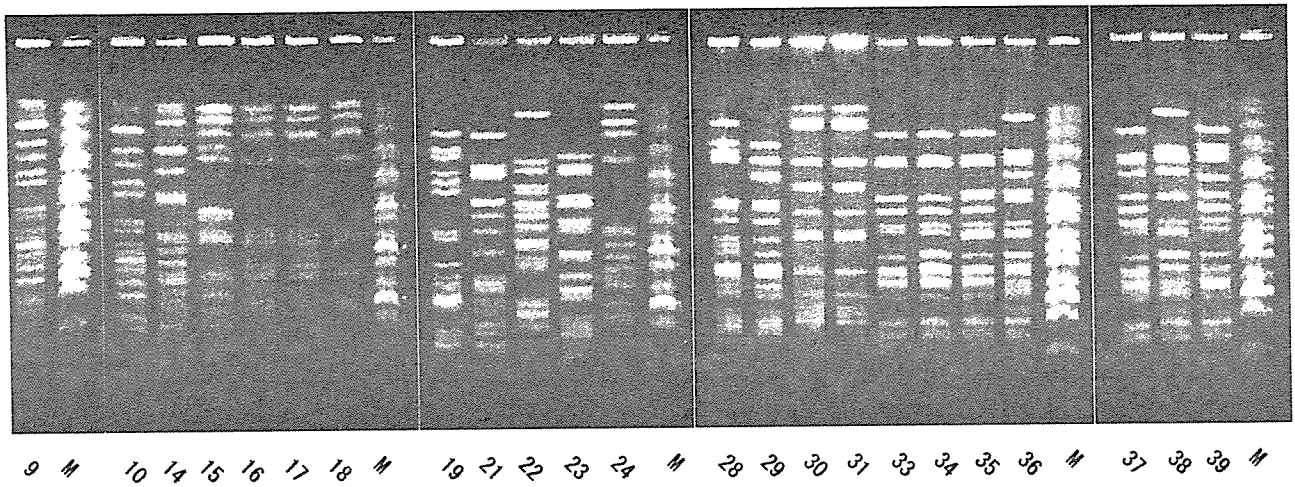
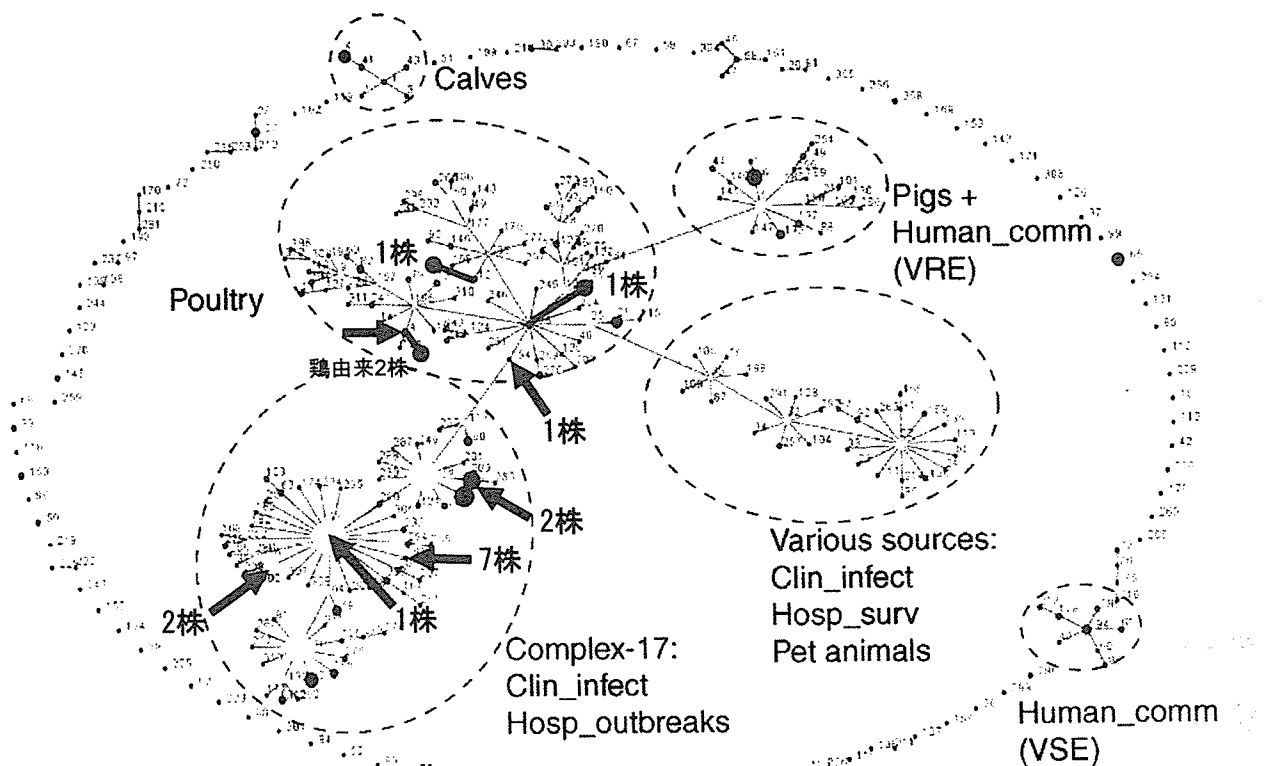


図3. 日本の臨床分離 VanA 型 *E. faecium* VRE のST 型分布



薬剤耐性菌等に関する研究班
高度多剤耐性緑膿菌の院内感染対策に関する研究

分担研究者 切替 照雄 国立国際医療センター研究所 感染症制御研究部

研究要旨

我が国の医療施設における高度多剤耐性緑膿菌の実態と有効な感染対策を明らかにすることを目的として、分子疫学解析、アンケート調査及び迅速診断法の会を実施した。具体的には、全国の医療施設を対象に多剤耐性分離株に関するアンケート調査した。高度多剤耐性緑膿菌による感染事例を聞き取り調査し、全国の医療施設で分離された菌株を収集し、薬剤耐性遺伝子等の感染拡大因子探索を試みると共に、分子疫学的情報からの感染伝播様式を考察した。その結果、高度多剤耐性緑膿菌の特定の菌株による感染拡大が医療現場で起きつつあることを明らかにした。さらに、薬剤耐性遺伝子情報をもとに高度多剤耐性緑膿菌流行株を同定するための迅速簡便診断法（凝集法及び LAMP 法）を開発した。

A. 研究目的

近年、各地の医療施設から多くの抗菌薬に高度耐性を示す緑膿菌の分離報告及び院内感染報告がなされるようになってきた。これらの高度多剤耐性緑膿菌はアミノグリコシド薬、ニューキノロン薬、カルバペネム薬に高度耐性を示し、治療が極めて困難であると共に、個々の施設内での伝播を引き起こす。今日の医療提携システムのもとでは、施設を超えて広域に伝播拡大していくことが懸念されている。このような背景のもと、感染拡大の防止及び対策を講じ、医療の質と信頼を確保するため、高度多剤耐性緑膿菌の院内分離状況を把握する必要がある。そこで、これまでに宮城県内の一病院で多発事例を起した多剤耐性緑膿菌、同県内の主要な病院で分離された多剤耐性緑膿菌の分子疫学解析を実施した。さらに、全国の医療機関における多剤耐性緑膿菌の分離状況を調査する為、国立病院機構ネットワークの各医療施設 および、東京都 茨城県 大阪府 高知県 広島県 大分県の医療施設において分離された多剤耐性緑膿菌の分子疫学解析を実施した。

また、全国の多剤耐性緑膿菌の実態を調査する為、多剤耐性緑膿菌に関するアンケート調査を実施した。

B. 研究方法

1. 疫学解析

宮城県内においては平成12年頃より数施設の病院から、それまでほとんど分離されていなかったアミノグリコシド薬、ニューキノロン薬、カルバペネム薬の3剤全てに耐性を示す多剤耐性緑膿菌の報告がなされるようになってきた。多剤耐性緑膿菌は個々の施設内での伝播に加え、施設を超えて広域に伝播拡大していくことが懸念されている。そこで、平成15年10月より宮城県内の20施設を対象に、多剤耐性菌の継続した菌株収集を開始し、その分離状況の把握に努めてきた。同時期に分離された薬剤感受性緑膿菌70株を多剤耐性緑膿菌との比較に用い、分子疫学調査を実施した。また、平成18年6月より12月の7ヶ月間、国立病院機構ネットワークの19 医療施設を対象に収集した多剤耐性緑膿菌、および、東京都内 2施設、茨城県内 1施設、大阪府内 1施設、高知県内 1施設、

広島県内 1施設、大分県内 1施設より収集した多剤耐性緑膿菌の分子疫学調査を実施した。具体的には、薬剤感受性ディスク法及び微量液体希釈法による薬剤感受性試験、パルスフィールドゲル電気泳道法 (PFGE) による遺伝子型別、SMAディスク法によるメタロベータラクタマーゼ産生性の有無、PCR法によるカルバペネム薬耐性遺伝子であるメタロベータラクタマーゼ遺伝子及びアミノグリコシド薬耐性遺伝子であるアミノグリコシドアセチルトランスフェラーゼ遺伝子の検出、ニューキノロン薬耐性要因の1つである *gyrA* 遺伝子、*gyrB* 遺伝子、*parC* 遺伝子、*parE* 遺伝子内変異の有無を調査した。

2. 多剤耐性緑膿菌の迅速診断法の開発：感作ラテックスビーズによる逆受身凝集反応

多剤耐性緑膿菌を早期診断し、今後、院内感染が発生する前に対策を行えるようにするため、多剤耐性緑膿菌が産生するアミノグリコシドアセチルトランスフェラーゼ AAC(6')-Iae で免疫して得られた抗体を微粒子に結合させ、これと緑膿菌を混ぜ合わせることによりわずか1分で、かかる多剤耐性緑膿菌を判定可能とする方法 (スライド凝集法) を構築した。

3. 多剤耐性緑膿菌の迅速診断法の開発：Loop-mediated isothermal amplification(LAMP)法

LAMP 法は、一定温度のもとで、DNA を増幅することが出来る。そこで、多剤耐性緑膿菌が保有するアミノグリコシドアセチルトランスフェラーゼ遺伝子 *aac(6')-Iae* を検出するための LAMP 用プライマーを設計し、多剤耐性緑膿菌の検出に供試した。

4. 多剤耐性緑膿菌に関するアンケート調査

平成 15 年から平成 18 年 6 月までの 3 年半の多剤耐性緑膿菌の分離状況等に関して、全国 538 医療施設 および臨床検査受託事業所 4 施設を対象に、アンケート形式による実態調査を実施した。(倫理面への配慮)

研究対象は患者情報と完全に切り離された臨床分離株を使用する。

C. 研究結果

平成 15 年 10 月より平成 16 年 11 月までに、13 施設よりアミノグリコシド薬、ニューキノロン薬、カルバペネム薬に耐性を示す多剤耐性緑膿菌が計 214 株分離された。PCR の結果、これらの多剤耐性緑膿菌 214 株中 212 株が上記のアミノグリコシド耐性遺伝子 *aac(6')-Iae*、IMP-1 型メタロベータラクタマーゼ遺伝子を保有していた。分離された緑膿菌すべてについて、PFGE に基づく相同性を解析した結果、多剤耐性緑膿菌は 1 つのクラスターに分類され、それらの類似性は 70% 以上であった (図 1)。一方、薬剤感受性緑膿菌の PFGE パターンには多剤耐性緑膿菌に認められたような類似性は見られず、様々な PFGE パターンに大別された。また、これらの薬剤感受性緑膿菌の PFGE パターンと多剤耐性緑膿菌の PFGE パターンは全く異なっていた。以上より、これらの多剤耐性緑膿菌はアミノグリコシド薬、ニューキノロン薬、カルバペネム薬に高度耐性を示し、治療が極めて困難であること、さらに施設を超えた多剤耐性緑膿菌の院内分離状況が把握され、これらの緑膿菌株が極めて類似した菌株であることが明らかになった。このような 1 つの県において、極めて類似した多剤耐性緑膿菌株が施設間を越えて分離されている状況をうけ、平成 18 年 6 月より 12 月の 7 ヶ月間、国立病院機構ネットワークの 9 施設 (宮城県内 1 施設 6 株、東京都内 1 施設 4 株、千葉県内 1 施設 1 株、神奈川県内 1 施設 1 株、京都府内 1 施設 1 株、大分県内 1 施設 2 株、宮崎県内 1 施設 2 株、鹿児島県内 1 施設 2 株、熊本県内 1 施設 1 株) より、20 株の多剤耐性緑膿菌を収集した。さらに、平成 18 年 8 月より平成 19 年 1 月までに、東京都内 2 施設より 37 株、茨城県内 1 施設より 1 株、大阪府内 1 施設より 10 株、高知県内 1 施設より 10 株、広島県内 1 施設より 70 株、大分県内 1 施設より 4 株の全合計 152 株の多剤耐性緑膿菌を収集した。収集した 152 株について、PFGE に基づく相同性を解析した結果、宮城県、茨城県、千葉県、東京都、神奈川県、広島県、鹿児島県より分離された多剤耐性緑膿菌は、先の宮城県内にて分離された多剤耐性緑膿菌と同じクラスターに分類された。このうち、宮城県、

千葉県、東京都、神奈川県、広島県、より分離された株は、アミノグリコシド薬、ニューキノロン薬、カルバペネム薬に高度耐性を示しており、全国的に類似した多剤耐性緑膿菌が分離されつつあることが推察された。

このような多剤耐性緑膿菌を早期診断し、今後、院内感染が発生する前に対策を行えるようにするため、本アミノグリコシドアセチルトランスフェラーゼで免疫して得られた抗体を微粒子に結合させ、これと緑膿菌を混ぜ合わせることによりわずか1分で、かかる多剤耐性緑膿菌を判定可能とする方法(スライド凝集法)を構築した(図2)。同時に遺伝子レベルでの迅速診断法の開発にも取り組み、LAMP法による同遺伝子検出法を確立した(図3)。LAMP法では、スライド凝集法でわずかに認められる非特異的反応を抑え、わずか30分以内に多剤耐性緑膿菌の判別が可能であった。上記の2つの方法

およびPCR法による多剤耐性緑膿菌検出の比較を表1に示した。全ての方法で、特定の遺伝子型(クラスターA)の属する多剤耐性緑膿菌を効率に検出することが可能であった。

全国が多剤耐性緑膿菌の分離状況を把握する為、平成15年から平成18年6月までの3年半の多剤耐性緑膿菌の分離状況等に関して、全国538医療施設および臨床検査受託事業所4施設を対象に、調査を実施した結果、全国339医療施設(回答率63%)及び臨床検査受託事業所4施設(回答率100%)より回答を得た。そのうち、291医療施設(85.8%)から平成15-18年の3年半を通じて多剤耐性緑膿菌が分離されていた。その分離数及び患者数は、平成15年と比較すると、平成16年以降若干の増加傾向が見られたが、急激な増加は見られず、年間1000病床あたり数例程度が大半であると推定された。

検査材料別で見た場合、多剤耐性緑膿菌は、尿路系検査材料、ついで呼吸器系検査材料から多く分離される傾向が見られた。一方、臨床検査受託事業所の件数は、同時期の医療施設での件数と比較すると低値であった。以上の結果より、我が国の医療施設を中心に多剤耐性緑膿菌が新興し始

めている実態が明らかになった。

D. 考 察

近年、各地の医療施設から多くの抗菌薬に高度耐性を示す緑膿菌の分離報告及び院内感染報告がなされるようになってきた。これらの高度多剤耐性緑膿菌はアミノグリコシド薬、ニューキノロン薬、カルバペネム薬に高度耐性を示し、治療が極めて困難であると共に、個々の施設内での伝播を引き起こす。今回の分子疫学解析の結果、宮城県内だけでなく全国の複数の病院から同一のPFGE型を示す高度多剤耐性緑膿菌株が分離された。アンケート調査から推測されたように、多剤耐性緑膿菌が全国に新興し始めているこの時期に、高度多剤耐性緑膿菌の治療法及び院内感染防止対策法を確立し、良質な医療サービスが提供できる体制を構築が急務であると考えられる。

E. 結 論

今回の調査によって、多剤耐性緑膿菌感染の実態が把握された。さらに、高度多剤耐性菌のPFGEパターンには一定の相同性があること、供試した高度多剤耐性菌の大多数(99%)がIMP-1型メタロベータラクタマーゼ遺伝子及びaac(6)-Iac型アミノグリコシドアセチルトランスフェラーゼ遺伝子保有株であること、また、ニューキノロン薬耐性と関連したgyrA遺伝子及びparC遺伝子内に変異が認められることが明らかになった。また、これらの特定の多剤耐性緑膿菌を迅速に検出する為の2つの方法を確立した。アンケート調査や多発事例での聞き取り調査等から、以下の対策が重要であった。

【多剤耐性緑膿菌感染対策に関わる提案】

- 1) 病院長のリーダーシップ：病院長の強いリーダーシップのもとに多剤耐性緑膿菌分離に焦点を絞った感染対策プログラムを実施する。
- 2) 職員教育(周知徹底)：すべての医療従事者が多剤耐性緑膿菌に関する知識を十分に持つ。
- 3) 感染制御に関わる院内体制の見直し：実行力のある感染制御チーム(ICT)を作る。