

200829010A

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

薬剤耐性菌等に関する研究

(H18 - 新興・一般 - 011)

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 荒川 宜親

平成21(2009)年4月

平成20年度 厚生労働科学研究費補助金

(新興・再興感染症研究事業)

「薬剤耐性菌等に関する研究」班 名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	荒川宜親	国立感染症研究所 細菌第二部	部 長
JANIS 研究 グループ 研究分担者	小崎繁昭	(社) 日本臨床衛生検査技師会	会 長
	北島博之	地方独立行政法人 大阪府立病院機構 大阪府立母子保健総合医療センター 新生児科	部 長
	小西敏郎	NTT 東日本関東病院	副院長
	鈴木里和	国立感染症研究所細菌第二部	主任研究官
	土手健太郎	名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻 生体管理医学講座 救急・集中治療医学	准教授
	藤本修平	群馬大学大学院医学系研究科 生体防御学講座 細菌感染制御学	講 師
	河野文夫	独立行政法人 国立病院機構 熊本医療センター	副院長
	松本哲哉	東京医科大学微生物学講座	教 授
	森兼啓太	国立感染症研究所感染症情報センター	主任研究官
	山口恵三	東邦大学医学部微生物・感染症学講座	教 授

区 分	氏 名	所 属	職 名
薬剤耐性菌 基礎研究 グループ 研究分担者	池 康嘉	群馬大学大学院医学系研究科 細菌感染制御学	教 授
	一山 智	京都大学大学院医学研究科臨床病態検査学	教 授
	切替照雄	国立国際医療センター研究所 感染制御部研究部	部 長
	倉田 毅	富山県衛生研究所	所 長
	黒崎博雅	熊本大学大学院医学薬学研究部 構造機能物理化学分野	助教授
	山口恵三	東邦大学医学部微生物・感染症学講座	教 授
	山本友子	千葉大学大学院薬学研究院 微生物薬品化学講座	教 授
	和田昭仁	国立感染症研究所細菌第一部	室 長
結核研究 グループ 研究分担者	一山 智	京都大学大学院医学研究科臨床病態検査学	教 授
	小林和夫	国立感染症研究所免疫部	部 長
	柴山恵吾	国立感染症研究所細菌第二部	室 長
	牧野正彦	国立感染症研究所病原微生物部	部 長
	松本智成	地方独立行政法人 大阪府立病院機構 大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 臨床研究部	部 長

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者の 研究協力者	加藤はる	国立感染症研究所細菌第二部	室 長
	山根一和	国立感染症研究所細菌第二部	主任研究者
	木村幸司	国立感染症研究所細菌第二部	主任研究官
	森茂太郎	国立感染症研究所細菌第二部	研 究 員
	和知野純一	国立感染症研究所細菌第二部	研 究 員
	筒井敦子	国立感染症研究所細菌第二部	院内感染対策 サーベイラン ス担当官
	朴 貞玉	国立感染症研究所細菌第二部	流動研究員
	古谷信彦	文京学院大学保健医療技術部臨床検査学科	教 授
	川村久美子	名古屋大学医学部保健学科 検査技術科学専攻	助 教
	吉田理紗	名古屋大学大学院医学系研究科 医療技術科学専攻	大学院生
	長野則之	船橋市立医療センター診療局検査科	臨床検査技師
	長野由紀子	国立感染症研究所細菌第二部	研究生 (薬剤師)
畑中公基	(財) 星総合病院中央検査科	臨床検査技師	

※研究分担者の研究協力者は各分担研究報告書に記載

目 次

I. 総括研究報告書

荒川宜親	薬剤耐性菌等に関する研究	1
------	--------------	---

II. 分担研究報告書

小崎繁昭	臨床分離株の薬剤感受性成績調査および薬剤感受性検査の変動因子と精度管理に関する研究	10
河野文夫	薬剤耐性菌による感染症サーベイランスシステムを用いた薬剤耐性菌発生动向の監視体制のあり方に関する研究	25
北島博之	NICUにおける院内感染サーベイランス方法の改善および院内感染予防対策ガイドラインの作成について	31
小西敏郎	手術部位感染 (SSI) サーベイランスにおける薬剤耐性菌の効率的かつ高精度のデータ収集方法のあり方に関する研究	61
鈴木里和	有効かつ効率的なサーベイランスシステム構築に関する研究	69
	厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) 全入院患者部門サーベイランス体制・還元情報の利用に関するアンケート調査 (追加研究)	99
土手健太郎	院内感染対策サーベイランス事業 ICU 部門における院内感染発生率の施設間の差異とその要因に関する研究	106
藤本修平	薬剤耐性菌情報等に関する情報伝達・解析システムの改良・強化	110
松本哲哉	検査部のデータを活用した耐性菌サーベイランスの検討	116
森兼啓太	院内感染対策サーベイランスにおける解析結果の還元・提供に関する研究	120
山口恵三	検査部門サーベイランスにおける起炎菌判定方法の検討	137
荒川宜親	新型薬剤耐性菌の分子機構に関する研究	146
池 康嘉	バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) に関する研究	150
一山 智	VRE の地域における感染制御 ～ <i>E. gallinarum</i> / <i>E. casseliflavus</i> +vanA/B の解析	156
切替照雄	高度多剤耐性緑膿菌の院内感染対策に関する研究	160

倉田 毅	地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する 細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究-----	168
黒崎博雅	新型の薬剤耐性菌の耐性機構・立体構造の物理化学的解析とその耐性 機能ならびに立体構造に基づいた検出剤の分子設計-----	174
山口恵三	クラスDに属する β -ラクタマーゼの検出法確立に関する 基礎的検討-----	184
山本友子	肺炎球菌におけるマクロライド耐性機構の解析-----	186
和田昭仁	血清型6B, 6A及び19F肺炎球菌のMLSTと薬剤感受性の関連---	189
一山 智	市中病院における多剤耐性結核患者管理体制の確立-----	191
小林和夫	<i>Mycobacterium avium complex</i> (MAC) 特異的糖蛋白質抗原を 用いた喀痰培養陰性(気管支内視鏡的)肺MAC感染症の血清診断-	196
柴山恵吾	非結核性抗酸菌の薬剤耐性に関する研究-----	199
牧野正彦	多剤耐性抗酸菌感染症の治療法の確立の基礎研究-----	205
松本智成	非結核性抗酸菌症、特に <i>Mycobacterium avium</i> 症における 薬剤耐性機序に関する研究-----	211
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	215
IV. 研究成果の刊行物・別冊・資料	-----	218

I. 総括研究報告書
(平成20年度)

薬剤耐性菌等に関する研究

研究代表者 荒川 宜親（国立感染研 細菌第二部）

研究要旨

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA) やバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)に加え、近年、緑膿菌やアシネトバクター属菌など様々な菌種において多剤耐性を獲得した株が出現し蔓延するなど問題となっており、またそれらによる感染症の発生が、医療先進国や発展途上国を問わず、医療現場で現実的な障碍となっている。そこで、本研究班では、国内の医療機関で分離された各種の病原細菌の中で、既存および新型の薬剤耐性機序を獲得した菌株を対象として、細菌学的、分子生物学的、分子疫学的な観点から様々な解析などを実施し、同時に、各種検査法の開発などを試みた。具体的には、VRE などの地域的蔓延の実態把握、プラスミド媒介性にアミノ配糖体超高度耐性を付与する 16S rRNA メチレーズ (RmtC や NpmA など)、フルオロキノロン排出ポンプ(QepA)産生株の分離状況、ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌(PGRBS)、など新型の薬剤耐性菌の発見とそれらに関する分子、遺伝子レベルでの解析、PGRBS を簡便に検出する方法の確立など、多くの成果を上げることができた。また、抗酸菌における薬剤耐性や宿主応答などに関する基礎的研究を行った。一方、国内医療施設における主要な病原細菌における薬剤耐性の獲得状況や各種薬剤耐性菌の分離状況、それらによる感染症の発生動向を把握し、医療機関における院内感染対策を支援するために、平成 12 年より厚労省により実施されている「院内感染対策サーベイランス (JANIS)事業」の検査部門、全入院患者部門、集中治療(ICU)部門、手術部位感染症(SSI)部門、新生児集中治療(NICU)部門の 5 つの部門サーベイランスの安定的運用と改善のため、専門的かつ学術的な観点から研究と支援を行なった。

研究分担者 (50 音順)

池 康嘉 群馬大学大学院 細菌感染制御学 教授
一山 智 京都大学大学院医学研究科
臨床病態検査医学 教授
河野文夫 国立病院機構熊本医療センター 副院長
北島博之 大阪府立母子保健総合医療センター
新生児科 部長
切替照雄 国立国際医療センター 感染症制御研究部
部長
倉田 毅 富山県衛生研究所 所長
黒崎博雅 熊本大学大学院 構造機能物理化学分野
助教授
小崎繁昭 (社) 日本臨床衛生検査技師会 会長
小西敏郎 N T T 東日本関東病院 副院長
小林和夫 国立感染研 免疫部 部長
柴山恵吾 国立感染研 細菌第二部 第四室 室長
鈴木里和 同上 第一室 主任研究官
土手健太郎 愛媛大学医学部集中治療部 准教授
藤本修平 群馬大学大学院 細菌感染制御学 講師
牧野正彦 国立感染研 ハンセン病研究センター
病原微生物部 部長
松本哲哉 東京医科大学微生物学 教授
松本智成 大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター
免疫感染症学 部長
森兼啓太 国立感染研 感染症情報センター 主任研究官
山口恵三 東邦大学医学部 微生物/感染症学 教授

山本友子 千葉大学大学院微生物薬品化学 教授
和田昭仁 国立感染研 細菌第一部 第三室 室長

A. 研究目的

2000 年代に入ると、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)やバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)のみならず、多剤耐性を獲得した緑膿菌(MDRP)やアシネトバクターなどの各種の薬剤耐性菌が、各地の基幹病院や大学附属病院などの大規模医療施設のみならず中小規模の病院においても、しばしば分離されるようになり、一部の医療機関では、複数の患者より同時に多数分離されるなど、院内感染の起因菌として大きな関心事となっている。医療施設内における薬剤耐性菌の伝播・拡散による保菌者の増加は、それらによる感染症の発症リスクの上昇因子となるため、薬剤耐性菌による感染症の発症者のみならず、無症状の保菌者も早期に把握し、それらの耐性菌の施設内伝播を防止するための対策が重要であることが一般的な認識となりつつある。既に、1980 年代より欧米の医療施設において MRSA や VRE、基質拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)を産生する大腸菌や肺炎桿菌など様々な薬剤耐性菌が出現・蔓延し、我が国の医療施設においても 1990 年代に入ると MRSA が広く定着しはじめ、また 1990 年代の後半から VRE も各地の医療施設で散発的ではあるものの、院内感染症や血流感染症、術後感染症等の起因

菌として分離されるようになり、1990年代の後半からは、カルバペネム耐性を付与するメタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)を産生する多剤耐性緑膿菌(MDRP)なども国内各地の医療機関で検出されるようになり、これらの各種薬剤耐性菌の今後の医療環境での蔓延が強く懸念されている。

このような状況に対処すべく、1990年代後半より、個々の医療施設では、院内感染対策委員会、感染制御チーム(ICT)などが徐々に設置されるようになり、さらに感染管理のための専任の職員が配置されるなど、医療施設内で医療行為に関連して発生する二次的な感染症、いわゆる院内感染症(病院感染症、医療関連感染症)を防止する為の様々な対策が講じられるようになってきた。

個々の医療施設における院内感染対策が実効あるものか否かは、各々の施設における薬剤耐性菌や感染症患者の発生動向を監視すること(医療機関内サーベイランス)により概ね把握可能である。同時に有効な対策を講じるためには、自施設における薬剤耐性菌の分離状況や院内感染症患者の発生動向と他施設のそれらとを相対的に比較対比し、自施設の状況を客観的に把握することが不可欠である。そこで、厚生労働省は平成12年度より「院内感染対策サーベイランス(JANIS事業)」を開始し、本研究班は、その運営に対し専門的、学術的な観点からの助言や支援を行う事を目的として研究活動を継続してきた。

同時に、国内の医療施設における感染対策を支援するため、本研究班では、各々の分担研究者により、院内感染症の起原菌となりうる各種の病原細菌や抗酸菌における薬剤耐性機構の分子解析や検査法の開発、および抗酸菌感染症における宿主応答などに関する様々な研究など多面的な研究活動を行った。

B. 研究方法

平成20年度の研究班では、JANIS事業の平成19年7月からの大幅な改善を受け、「検査部門」、「集中治療部門(ICU)」、「全入院患者部門」、「手術部位感染症(SSI)部門」、「新生児集中治療部門(NICU)」の5つのサーベイランス部門において、JANIS提出データや集積方法、集計方法、還元図表の内容など種々検討を行なった。また、JANIS事業の円滑な運用のため、JANIS事業参加医療機関に対し様々な支援を行なった。

同時に、サーベイランスデータの質的向上を図る為、細菌検査、細菌の同定や薬剤感受性試験法の精度管理法の向上を目的として、昨年度に引き続き「臨床分離株の薬剤感受性成績調査および各種抗菌薬に対する感受性測定に関する研究」が(社)日本臨床衛生検査技師会の微生物研究班により行なわれた。さらに、我が国で分離された汎アミノ配糖体超高度耐性緑膿菌から世界で最初に発見されたプラスミド媒介性の16S rRNAメチレーズやプラスミド媒介性のフルオロキノロン排出ポンプ(QepA)などについ

て、国内分離株の調査を続行した。

一方、臨床現場で患者より分離された様々な薬剤耐性菌(抗酸菌を含む)について、それらの細菌が獲得した新たな耐性メカニズムなどに関する基礎的な研究が、各々の研究分担者により行なわれた。さらに、得られた研究成果に基づき、薬剤耐性菌の検査法の改善や開発などが種々検討された。

(倫理的側面での配慮)

JANIS事業で提出されるデータは、感染症の起原菌の種類や感受性試験結果、感染症患者のID、入院日、基礎疾患名、感染症名などの臨床情報の一部の情報に限られ、しかも患者IDは提出する医療施設の側で変換され、匿名化されて提出されるため、蓄積されたデータベースの情報から遡って逆に患者個人を特定することは技術的に不可能となっている。しかも、研究班でJANIS事業データを利用する場合は、各々の施設長の許諾を個別に得て実施している。尚、研究班外へのデータの漏出などが発生することのないよう、その取り扱いについては、データを格納するパソコンを鍵のかかる部屋に設置し、起動時にパスワードを設定し、管理者を限定する等十分な安全対策を行っている。

C. 研究結果

1. JANIS事業の有効かつ効率的なサーベイランスシステム構築に関する研究 (鈴木里和)

平成19年7月に大幅な改善を行なった院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業について、我が国の院内感染の現状およびその要因についてより正確に把握が可能となるように、引き続き、運用体制の改良や整備を継続した。平成20年の10月よりサーベイランス参加施設の追加募集を行ない平成21年1月時点で850以上の医療機関が参加する多施設参加型の全国(ナショナル)サーベイランスとなっている。今後も引き続き、厚生労働省に提出されたサーベイランスデータの精度管理や運用の改善などを進め、我が国の院内感染対策の向上に寄与するナショナルサーベイランスシステムとして発展させるべく検討と改善を継続する必要がある。

2. JANIS研究グループにおける個別の研究成果

a. 検査部門サーベイランス研究グループ

(山口恵三)

JANIS事業の検査部門サーベイランスの運用の改善を支援するとともに、臨床的基準に基づいた肺炎患者由来咳痰、非感染患者由来咳痰における各種検体評価法(咳痰の性状、Gecklerの分類、菌量)による起炎性を検討した。非感染患者由来咳痰をコントロールとした場合、「咳痰の性状」のみを起炎性の基準としたものがオッズ比3.23と最も適していた。「菌量」のみを基準とした場合はオッズ比は0.57

であり、検査部の喀痰における起炎性の基準には不
適当であることが示唆された。複数の基準を組み合
わせてもオッズ比が「喀痰の性状」のみを基準とし
た場合のオッズ比を上回ることはなかった。単純集
計の分離頻度と設定した基準に基づいた起炎菌の分
離頻度との比較では、分離菌の順位は1~4位まで
変わらず、起炎菌の上位10菌種の分離頻度はすべ
てにおいて単純集計の分離頻度を上回っていた。主
要菌の各種薬剤に対するMIC分布は分離菌の単純
集計と起炎菌の集計で差はみられなかったが、多剤
耐性緑膿菌では2剤耐性菌の分離頻度は単純集計に
おいて6.9%と、起炎菌の3.8%よりも高く、3剤耐
性菌の分離頻度は単純集計において1.9%であった
ものが起炎菌では2.4%であった。以上のことから
設定した基準に基づいた起炎菌の集計は耐性菌感染
症の動向を把握する上で必要であると考えられた。

b. 全入院部門サーベイランス研究グループ (河野 文夫)

本分担研究班は、薬剤耐性菌による感染症サー
ベイランスシステムとして、感染症の起原因菌の調査
対象菌種をMRSA、PRSP、多剤耐性緑膿菌、メタ
ロ-β-ラクタマーゼ産生グラム陰性桿菌、VRE、
VRSAとし、2008年4月から2008年9月までを調
査対象期間とし、中間集計を行った。

総入院患者数は279,650名、薬剤耐性菌による感染
症患者数は1,592名であった。そのうちMRSA感
染症患者が1,461名(91.8%)で、PRSP(PISPを含む)
感染症患者は115名(7.2%)で、多剤耐性緑膿菌感
染症患者は15名(0.9%)で、メタロ-β-ラクタマーゼ産
生グラム陰性桿菌感染は1名(0.1%)であった。VREと
VRSAについての報告は無かった。調査期間中の薬
剤耐性菌全体の感染率と罹患率はそれぞれ6.01%、
4.32%であり、月平均はそれぞれ4.81~6.36%、3.39
~4.62%で推移した。一方、施設間での較差も見ら
れ、感染率の高い施設は36.34%、低い施設は0.00%、
罹患率の高い施設は20.44%、低い施設では0.00%
であった。

今後はサーベイランスの精度向上を目的とし、協
力施設間の意思疎通を図りながら、薬剤耐性菌によ
る患者発生動向を監視していくとともに、施設間の
発生状況の較差にも注目していきたい。

c. ICU部門サーベイランス研究グループ (土手 健太郎)

厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業の
ICU部門に参加した研究班のICUを対象として、
施設間の院内感染発生率の差異とその要因について
検討した。院内感染の発生率は全体として5%台で
推移しているが、2005年にはやや低下傾向を示し
ていたが参加施設が減少した2006年度には増加し
た。院内感染全体の約4割は耐性菌による感染であ
った。院内感染発生率は施設によりバラツキがあり、
特に症例数が少ない施設においてバラツキが大きい

傾向が認められた。発生率の高い施設は一貫して高
い発生率で推移していたが、2006年にはこれらの
施設における発生率が低下しており、院内感染対策
サーベイランス事業への参加が院内感染対策の改善
に影響を与えている可能性が示唆された。一方、発
生率の非常に低い施設も認められ、提出データの精
度にバラツキがある可能性が示唆された。これは感
染症の判断基準に関する施設間の解釈の相違などが
影響している可能性があると考えられ、感染症判定
についてのアンケート調査をおこなったところ、感
染症の判定基準は一致しているものの種々の判定者
により感染症の判定が行なわれており、これがデー
タのバラツキと関係ある可能性が示唆された。

d. 手術部位感染(SSI)サーベイランスにおける 薬剤耐性菌の効率的かつ高精度のデータ収集方 法のあり方に関する研究 (小西敏郎)

本邦における多施設共同SSIサーベイランスは
1998年11月より日本環境感染学会の学会事業とし
て開始され、2002年7月より厚生労働省院内感染
対策サーベイランス(JANIS)事業としても行なわ
れるようになった。2007年春のJANIS事業での施
設数拡大に伴い、SSI部門でも6ヶ月間で30000例
以上の症例が登録されるようになり、この10年間
の活動を通して、SSIサーベイランスが本邦でも広
く普及してきたためと考えられる。

本邦のSSIサーベイランスに用いているJHAIS
(Japanese Healthcare-Associated Infection Surveillance)
システムでは、現在、基本13項目、SSI発生例で
追加4項目のデータを収集している。これらJHAIS
システムにおけるデータ収集項目を評価した結果、
SSI発生リスクからみて、収集項目として概ね適当
と考えられた。一方、NNIS SSI Risk Indexに用いて
いる項目以外の項目も、SSI発生のリスクとなっ
ていることが明らかとなり、SSI発生リスクの階層化
はNNIS SSI Risk Indexだけでは不十分な可能性が
あると考えられた。

精度の高いSSIサーベイランスの普及が、本邦に
おける周術期感染対策のさらなる改善につながり、
質の高い外科治療の提供に結びつくものと思われる。

e. NICUにおける院内感染サーベイランス方法の 改善および院内感染予防対策ガイドラインの作 成について (北島 博之)

1) 全国NICU院内感染サーベイランスデータ収集
体制を確立する; NICUにおける院内感染サーベイ
ランスの目的はNICU部門における院内感染症とその起
炎菌に関して調査を行い、サーベイランス参加施設にお
ける出生体重別・感染症別・起炎菌別の感染症発症状況
を全国平均と比較して評価することである。平成18年
から各施設からの提出データ内容を限定して、出生体重別
(1000g未満、1000-1499g、1500g以上)の年間入院数
および感染症発症者の出生体重区分・感染症名・起炎菌
を入力データ内容とした。平成19年度には入力・出力

方法を改善するために入力方法を、我々の開発してきた NICU230 に準拠する診断項目をエクセルソフトで開発し、次いで出力データもエクセルでほぼ自動化した。提出データ概数について平成 19 年は 32 施設から総入院数 4028 名で感染症発症者は 281 名 (7.0%)、ついで平成 20 年は 44 施設から総入院数は 5678 名 (1000g 未満: 335 名、1000-1500g 未満: 456 名、1500g 以上: 4887 名) で感染症発症者は 346 名 (6.1%) であった。年毎に NICU 参加施設は増えており、現在 1500g 未満の極低出生体重児に関しては、日本全国での出生児の約 10 分の 1 のデータを把握して来ている。

2) NICU 院内感染予防対策のガイドラインの作成を進める; NICU 院内感染予防対策ガイドラインの作成は、平成 16 年から始めた従来の研究班協力者の医師と共に働く看護師チームだけでなく、新生児看護学会標準化委員会・院内感染対策医師 (ICD) や看護師 (ICN) の参加を得て、一項目ごとに検討を重ねることで、平成 21 年度には草案が完成する予定である。

3) JANIS 全病院集計データを利用して、一般正常新生児における生後 28 日以下の MRSA 感染症発症の背景を調査解析した結果を、医療政策上に活かす; 新生児 MRSA 感染症を解析した内容を論文としたが、周産期の医療体制集約化の中で重要な意味を持つことが判明したので、それに基づいた政策への提言を行う; 2004-05 年の JANISJANIS 全病院データ全国 27 施設の全病院データを各施設から承諾をもらい解析した。①2004-05 年で 37 例 (菌血症 4 例、肺炎 1 例) の新生児 MRSA 感染症は全て混合病棟の 8 施設に観察され、産科単独病棟 3 施設では発症がなかった。②2 例以上発症した 5 施設は、年間分娩数が多く (年間 500 件以上)、分娩数/看護職員数比が 20 以上と分娩数が当該職員数に比べて多い施設であった。さらに分娩後母子異室の時期のある施設では発症が短期に集中することがあり、院内感染を疑わせた。今後の行政的施策としては現在、周産期医療の集約化が行なわれている中で、混合病棟の解消と母子同室の推進を平行して行うことが重要であり、両者共に病院機能評価の対象項目とすることが、今後の問題点の解消方法として妥当であると考えられた。

f. 解析データのフィードバックと活用

(森兼啓太)

厚生労働省事業「院内感染対策サーベイランス」のホームページ等による還元情報に対するアンケート調査を、事業参加医療施設に対して行なった。

ICU 部門では、還元情報そのものを見ていない施設も多く、見ている施設においては事業参加施設全体の感染率よりも自施設の前期や過去のデータと比較する施設が多かった。旧システムにおける還元情報に関する有用な項目を尋ねたところ、患者日あたりの感染率よりデバイス日あたりの感染率が有用であると答えた施設が多かった。

全入院部門では、80%の施設が還元情報を閲覧しているが、それを感染対策に活用している施設はそのうちの半数、しかもその活用の方法も院内感染対

策委員会の資料としているなど、実質的に感染対策に活用できていない施設も多かった。

以上の調査結果を踏まえ、事業の還元情報のあり方に関する検討を継続的に行ない、事業参加施設にとって真に役立つ院内感染対策サーベイランスシステムを構築する必要があると考える。

g. 電子化 (電算化) による感染対策の精度・効率の向上 (藤本 修平)

感染対策の自動化・電子化による効率化・高精度化によって限られた資源を活用し国民の安全を守ることを獲得目標に研究を行った。(I) 標準化、(II) 解析自動化、(III) 普及の方法論の研究を行った。標準化においては、JANIS 検査部門 (JCLS) 報告フォーマットの項目、カテゴリー、コードに関する OID(Object ID: 情報交換の国際標準で用いられる国際的に唯一無二のコード番号) の公開、IHE-J での JCLS コードの標準採用を実現した。解析の自動化では、antibiogram の自動分類 (AGA: automated grouping of antibiogram)、AGA を利用した 2 次元キャリアマップ (2DCM; two-dimensional color-coded carrier mapping) の開発・実装・検証、及び、菌の異常集積自動検出警告スコア累積から得られる感染対策上問題とすべき菌種の情報と菌種別感染の要素表を結合して感染対策の問題点の自動指摘、具体的な対策の自動助言を行うアルゴリズムの初期開発を行った。普及の方法論では、「精度の高い感染対策を行わないと院内感染のリスクに気づかず、リスクに気づかないために高精度の感染対策の必要性が認識されず、必要性が認識されないために高精度の院内感染対策が行われない。」と言う循環する構造があることが分かった。

h. 細菌検査、薬剤感受性試験等の精度管理に関する研究 (小崎 繁昭)

平成 19 年、20 年の JANIS 検査部門データ集計し、平成 18 年からの 3 年間の薬剤耐性率の変動について比較した。検討した 3 年間において薬剤耐性率に大きな変動は認められず、多剤耐性緑膿菌は調査施設の約 25% で検出されていた。測定機種間に検出率の差が認められていた *S. pneumoniae* について、遺伝子検索により PCG の耐性度を調査し、施設データおよび E-テストデータと比較したが、耐性度の高い菌株ではデータの一致率は良好であったが、耐性度の低い菌株における一致率は低かった。協力施設から収集した ESBL、メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌については、耐性遺伝子による型別を実施し、ESBL では CTX-M-3 が多く、メタロ-β-ラクタマーゼでは IMP-1 が多い結果であった。さらに、臨床的重篤な髄膜炎起因菌株を収集し、分離頻度や薬剤耐性率、肺炎球菌ワクチンのカバー率について集計を行った。分離菌は *H. influenzae* と *S. pneumoniae* で全分離菌株の 80% 以上を占めており、肺炎球菌

ワクチンのカバー率は7価ワクチンで64.7%、13価ワクチン82.4%であった。

i. 検査部のデータを活用した耐性菌サーベイランスの検討 (松本 哲哉)

本研究班では、厚生労働科学研究費補助金(医療技術評価総合研究事業)「院内感染の防止のための監視体制の整備、細菌検査室の機能向上に関する研究」(班長:東邦大学 山口恵三)において3年間の研究で得られた成果である標準感染監視システム(SHIPL)を、さらに改良を加えてより有効なプログラムに改訂するための検証を行うとともに、多施設における感染症コントロールの実現に向けて東京医科大学と3つの関連施設を結ぶ専用のネットワークを構築し、その活用を目指した検討を目的としている。

平成20年度はSHIPLの付加価値を高めることを目的として2次元キャリアマップを導入し、見かけ上、分離菌数は増えない状況においても、特定の菌株が一部の部署で広がっている潜在的院内伝播の状況の把握が可能であることを明らかにした。

さらに地域における感染症のコントロールを目指して、医療施設間のネットワークをより緊密にするために、東京医科大学病院、慶応義塾大学医学部付属病院、および東京女子医科大学病院の3病院が連携し、「新都心感染症研究会」を設立し、講演会を中心に地域連携を深める活動を行った。

3. 薬剤耐性菌基礎研究グループの研究成果

j. バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)に関する研究 (池 康嘉先生)

台湾の家畜(ニワトリ、ブタ、家畜環境)から分離されたVRE 30株、患者分離VRE 40株の疫学的研究を行った。家畜由来VRE 30株はすべて*E. faecalis*菌で、*vanA*型、*VanB*形質のVREであった。患者由来VREは、23株が*E. faecalis*、17株が*E. faecium*菌で、*E. faecalis* VREの22/23、*E. faecium* VREの6/17が、*vanA*型、*VanB*形質のVREであった。患者分離*E. faecalis*の23株中16株、家畜分離*E. faecalis* 30株中20株の*Van*耐性が、高頻度に受容菌に接合伝達した。同一の接合伝達性プラスミドが、家畜と患者由来VREから分離されたこれらの結果は、家畜由来のVREが人に定着し得ることを示すものである。

k. マクロライド耐性肺炎球菌の解析

(山本 友子)

平成20年度の研究では、臨床より分離された肺炎球菌のTelithromycin(TEL)低感受性化が、従来知られている23SrRNAの薬剤結合部位やriboprotein遺伝子の変異ではなく、外来性耐性因子の獲得によるものであることを明らかにした。外来性因子*mefE*と*ermB*の欠損株を構築して、TEL低感受性化への貢献度を検討したところ、*mefE*欠損ではMICが一

段階、*ermB*欠損株のMICは二段階低下したが、感受性株レベルまでは低下しなかった。一方、*mefE*と*ermB*の2重欠損によりMICは感受性レベルまで低下したことから、*mefE*と*ermB*を両方獲得することによりTEL低感受性化すると結論付けられた。*mefE*と*ermB*獲得の遺伝学的背景を明らかにするため、Transposonの存在を検討した。その結果*ermB*、*mefE*、*tet*をコードするTn2010-like structureが見出されたことから、3株のTEL低感受性菌はTn2010の転移により出現したと考えられた。

1. 新型の薬剤耐性菌の耐性機構・立体構造の物理化学的解析とその耐性機能ならびに立体構造に基づいた検出剤の分子設計 (黒崎 博雅)

抗生物質に耐性を示す細菌の出現は薬物治療を困難にし、感染症治療を行う上で大きな脅威となっている。その耐性機構の1つにβ-lactamaseが挙げられる。クラスBに属するメタロ-β-ラクタマーゼ(MBLs)は活性部位に亜鉛(II)を持ち、ほとんどの抗生物質のβ-ラクタム剤を不活化する。1990年代よりわが国においてクラスB MBLのIMP-1による院内感染が報告され、これらの菌に対する検出法の開発が急務である。我々は臨床検査室などで迅速かつ簡便に測定可能であると考えられる蛍光プローブ法でMBL産生菌を検出することを目的としている。本年度の研究では以前化学合成した蛍光剤N-[n-(5-(dimethylamino)naphthalene-1-sulfonamido)alkyl]-3-mercaptopropionamide(DansylCnSH)とクラスB MBLに属するBla-b、IND-1aにおける本蛍光試薬の検出能について蛍光分光法を用いて検討した。また本蛍光試薬のMBLsに対する選択性を考慮するため、クラスAセリン-β-ラクタマーゼに属するGES-3においても同様に検討した。DansylCnSHはBla-bまたはIND-1a共存下、いずれも蛍光強度は増大した。DansylCnSH(n=2, 4, 5, 6)の蛍光強度に及ぼすBla-b、IND-1aの濃度の効果から解離定数Kdを求め、蛍光剤とBla-b、IND-1aは1対1で結合することが分かった。セリン-β-ラクタマーゼGES-3では、Bla-b並びにIND-1aとは異なりDansylC4SHとの蛍光スペクトル測定において蛍光強度の変化は見られず、DansylCnSH(n=2, 4, 5, 6)はMBLsに対して選択的に結合し、蛍光検出試薬としてMBLs産生菌を簡便かつ高感度で検出することが期待される。

m. 高度多剤耐性緑膿菌の院内感染対策に関する研究 (切替 照雄)

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、前年度より引き続き、多剤耐性緑膿菌に関するアンケート調査、分子疫学解析および迅速診断法の開発を実施した。その結果、過去に宮城県で流行した高度多剤耐性緑膿菌クローンIMCJ2.S1株が、

東日本、特に関東地方（東京都、茨城県、千葉県、神奈川県、群馬県）で分離されることを見出した。また一方で、西日本においては IMCJ2.S1 株と同等の高度多剤耐性でありながら、IMCJ2.S1 株とは異なる薬剤耐性因子を産生する多剤耐性緑膿菌 IMCJ798 株・IMCJ799 株を分離し、その詳細な解析を行った。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の開発に関しては、これまでに開発した LAMP 法や凝集ビーズ法とは異なるイムノクロマト法の開発を行い、その評価試験を実施した。

- n. 地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究 (倉田 毅)

薬剤耐性菌による院内感染などの発生を早期に把握し、健康被害の拡大を防止するうえで地方衛生研究所の技術力は非常に有益と思われるが実際にはほとんど利用されていない。しかしながら、地方衛生研究所は、食中毒あるいは感染症の原因菌の分離・同定のための遺伝子検査技術の導入が進み、感染源解明に必要な分子疫学的な解析技術も充実しつつある。本研究は、薬剤耐性菌による健康被害の発生・拡大防止における地方衛生研究所の役割を明確にすることと併せ、各種薬剤耐性菌の分離・同定・分子疫学解析的調査機能の強化方法に関する具体的提言をすることを目的として三年間（平成 18～20 年）の最終年度の活動としてのアンケート調査結果に基づき薬剤耐性菌に関する現状を総括的に理解する研修会の実施と資料集を発行し、以下のホームページを通じて全国の地方衛生研究所に公開した。

<<http://www.nih.go.jp/niid/bac2/drugresist/index.html>>

- o. 血清型 6B、6A 及び 19F 肺炎球菌の MLST と薬剤感受性の関連 (和田 昭仁)

成人においても小児においても高頻度で分離され、ペニシリン耐性が問題となっている血清型 6B、19F 肺炎球菌のシーケンスタイプ解析をおこなった。6B のシーケンスタイプ ST90 は、13 株中 12 株でペニシリン G の MIC が 1-2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、ST902 ではペニシリン G の MIC は 6 株全て 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。血清型 19F には 8 種類のシーケンスタイプが見られたが、これはアリル *ddl* の配列の相違によるものであった。ペニシリン G の MIC は ST236 が 1-4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、ST926 が 1-2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を示した。ペニシリン耐性と *ddl* の配列との関連性につき、今後の解析が必要であると考えられた。

- p. クラス D に属する β -ラクタマーゼの検出法確立に関する基礎的検討 (山口 恵三)

今年度の研究では、クラス D に属する β -ラクタマーゼのうち、OXA-23 および OXA-40 については、昨年度得られた酵素標品を家兔に免疫し、抗血清の作成を終了した。得られた抗血清からポリクローナ

ル抗体(IgG)を精製して、OXA-23 および OXA-40 に対するウエスタンブロッティング法、ELISA 法およびイムノクロマト法による検出系を確立した。また、OXA-51 および OXA-58 の大量発現系の構築および酵素標品の取得に成功し、現在抗血清を作成している。

- q. VRE の地域における感染制御～*E. gallinarum*/*E. casseliflavus*+*vanA/B* の解析 (一山 智)

京都市内の一施設における VRE の大規模アウトブレイクをきっかけとして、京都大学他 3 施設と行政が対策チームを結成し、2005 年より地域での感染対策を実践している。2006 年度調査で検出施設数の増加が明らかとなり、2007 年度当初より、京都 VRE 対策指針に基づきアクティブサーベイランスの実施や保菌情報の共有などの対策の強化をはかった結果、2008 年度実施した全施設サーベイランスでは、VRE 検出施設数は減少傾向となり地域での感染予防策が一定の効果を示したものと考えられた。また、今年度は *vanA/E. gallinarum* の解析をさらに進め、当初京都地区で流行した *vanA/E. faecium* のプラスミド上の耐性遺伝子が、*E. gallinarum* のゲノム上へ伝播し耐性化したものと考えられた。*E. faecium* および *E. faecalis* によるアウトブレイク発生時には、通常は感受性検査の対象とならない *E. gallinarum*/*E. casseliflavus* についても、耐性獲得の可能性を考慮し、随時感受性試験を実施すべきであると考えられた。

4. 抗酸菌研究グループの研究成果

- r. 非結核性抗酸菌の薬剤耐性に関する研究

(柴山 恵吾)

この研究では、*Mycobacterium avium* の薬剤耐性メカニズムについて解析を行ってきたが、その解析の過程で薬剤排出蛋白をコードする MAP0075 遺伝子の upstream に新しい Insertion Sequence, IS1642 を見出した。この IS は *M. smegmatis* で報告されている IS1549 と高い相同性を持つものだった。この IS はゲノム上に複数コピー存在し、IS に隣接する Direct repeat 配列は一般的な IS のものと大きく異なり、非常に長くまたその長さも様々であった。この IS は比較的頻繁にゲノム上で転移するものであることが分かった。この IS をプローブにして臨床分離 *M. avium* 株を Southern blotting 解析を行ったところ、バンドパターンは非常に様々だった。この結果から、この IS は菌株が同一クローンかどうかの見分け等高い分離能が必要とされる分子疫学解析に用いる事が出来ると考えられた。この IS1642 に関する知見は、FEMS Microbiol Lett. 2009 Feb;291(2):216-21 に発表した。

- r. 多剤耐性抗酸菌感染症の治療法の確立の基礎研究 (牧野 正彦)

マクロファージの結核菌に対する防御において重

要な役割を果たして一酸化窒素(NO)産生は、CD4+ T細胞が産生する IFN-g、TNF-a や、CD40 リガンド-CD40 を介したマクロファージ-CD4+ T 細胞間相互作用によって調節されると考えられている。昨年度までに①マクロファージは BCG 感染によって弱いが NO 産生を誘導できること、②CD4+ T 細胞との相互作用によって BCG 感染マクロファージの NO 産生が増強されること、③この相互作用には IFN-g 及び CD40-CD40 リガンド相互作用は必須ではないことを明らかにした。

結核菌は細胞表面上の糖脂質を介して抗原提示細胞を活性化することで CD4+ T 細胞を Th1 細胞へと分化させる。そこで、本年度は NO 産生を増強するマクロファージ-CD4+ T 細胞間相互作用における T 細胞抗原受容体(TCR)による BCG 由来特異抗原認識の必要性及び活性化した CD4+ T 細胞の分化の方向性の役割に関して検討した。その結果、① CD4+ T 細胞による BCG 感染マクロファージの NO 産生増強にはマクロファージ上の BCG 由来抗原ヘプタド/MHC クラス 2 分子複合体と T 細胞上の T 細胞抗原受容体/CD4 分子複合体との会合が必須であること、② Th1 細胞へと分化した CD4+ T 細胞が産生する GM-CSF は CD4+ T 細胞との相互作用によって増強された BCG 感染マクロファージの NO 産生を抑制することを明らかにした。

また、GM-CSF で分化誘導したマクロファージの結核菌増殖抑制機構は M-CSF で分化誘導したマクロファージに比べ弱いことが知られている。そこで、CD4+ T 細胞との相互作用で増強される NO 産生における M-CSF の効果を検討した。その結果、M-CSF は CD4+ T 細胞との相互作用によって増強された BCG 感染マクロファージの NO 産生をさらに増強することを明らかにした。

以上の結果より、BCG の持つ特性によって誘導される Th1 分化がマクロファージの NO 産生を減弱し、BCG の生存を助長している可能性、M-CSF が結核感染の治療に有効なサイトカインである可能性が示唆された。

s. 市中病院における多剤耐性結核患者管理体制の確立 (一山 智)

結核感染の診断には従来ツベルクリン反応が用いられてきたが、免疫不全患者での陽性率の低さや BCG 接種患者における偽陽性など、わが国においては結核感染の診断はツ反では困難であった。QFT-2G (クオンティフェロン 2G、以下 QFT) は、結核特異抗原をリンパ球に反応させ結核を判定する新しい検査法であるが、結核ハイリスク群である免疫抗膠原病患者における有用性を検討した。

今年度は更に症例を追加し、全 298 症例について解析を行った。23 例 (7.7%) が判定不可と判定されたが、うち SLE 患者が 17 例を占め、SLE 患者においては 17/63 (27.0%) で判定不可となった。判定不可例では、判定可能例と比較して末梢血リンパ

球数が有意に低値であり、SLE の活動性指標 (SLEDAI) が有意に高かった。ツ反は判定した全例 (14 例) すべて陰性であった。結核発病患者での評価では、7 例中 5 例で QFT が陽性 (71.4%) となり、うち 2 例では QFT は結核症の早期発見に有用であった。

以上より免疫抑制薬を投与されている膠原病患者においても QFT はツ反と比較して結核感染および発病の診断において有用であると考えられたが、活動性の高い SLE 患者では、活動性の低下をまって判定する必要があると考えられた。

t. 非結核性抗酸菌症、特に *Mycobacterium avium* 症における薬剤耐性機構に関する研究 (松本 智成)

Mycobacterium (M.) avium 症は、結核症と異なり有効な治療法がない。現在 rifampin (RFP)、ethambutol (EB)、clarithromycin (CAM) による加療が推奨されているが、クラリスの感受性が治療成績に影響を与えていると言われている CAM 感受性株であっても排菌陰性化しない場合がある。治療抵抗性の肺 *M. avium* 症は、実は繰り返す持続感染発病状態を反映しているのかもしれない。または治療抵抗性の肺 *M. avium* 症は、同じ抗酸菌族でも結核菌とは異なる薬剤耐性機構を有するかもしれない。

本年度は、*M. avium* 慢性持続排菌症例の VNTR を行い、再排菌 1 症例は VNTR パターンが異なっていたが、他の慢性持続排菌症例では、空洞形成型肺病変以外の *M. avium* 症においても VNTR パターンが保たれていた事を明らかにした。加療中感受性が変化しても VNTR は同一であった。さらに Virginie 等の VNTR と西森等の VNTR を比較した。Virginie 等の VNTR は 8 領域であり西森等の VNTR の 16 領域に比較し解析領域が少なく解像度も低かった。しかしながら、Virginie 等の VNTR と西森等の VNTR の領域を組み合わせる事により解像度の上昇が認められた。また、系統樹解析を行うと、VNTR において居住歴が異なり接触歴も無いが同一の菌株があり、死亡率も高かったことより何らかの病原性との関連が示唆される。VNTR と HPLC によるミコール酸のタイピングならびに血清型別を比較したが関連性は認められなかった。

u. *Mycobacterium avium* complex(MAC)特異的糖蛋白質抗原を用いた喀痰培養陰性 (気管支内視鏡的) 肺 MAC 感染症の血清診断 (小林和夫)

喀痰培養陰性 (気管支内視鏡的) 肺 MAC 感染症において血清抗 GPL 核 IgA 抗体を検出する試作診断キットの血清診断は診断感度: 73.6%、特異度: 96.5%であった。試作診断キットは 1) 迅速 (所要: 約 3 時間)、2) 非侵襲性、安全であり、培養陰性 (気管支内視鏡的) 肺 MAC 感染症の診断に有用である。

5. JANIS 事業の集計結果の点検と公開

各サーベイランス部門毎の集計結果(季報、年報)について定期的に点検を行い、「院内感染対策中央会議」での確認を得た上で、ホームページ[<http://www.nih-janis.jp/>]を通じて一般に公開した。(森兼啓太および関係者全員)

D. 考 察

先日、福岡県内の特定機能病院で、多剤耐性を獲得したアシネトバクターが、複数の患者から分離され、一部は死亡との関連性が検討されている。また、同様に、多剤耐性アシネトバクターによる類似の院内感染が発生している医療機関が他にも存在している。このように、すでに国内外の医療現場で無視できない問題となっている、MRSA や VRE などのグラム陽性菌の多剤耐性菌に加え、緑膿菌やアシネトバクターなどのグラム陰性桿菌における多剤耐性株の出現と蔓延が、医療現場で現実的な脅威となっており、さらに、大腸菌や肺炎桿菌などの腸内細菌科の菌種においてもセフトキサシム/セフトリアキソン耐性株、フルオロキノロン耐性株の増加が国内外の医療機関で警戒されている。薬剤耐性菌による感染や感染症を未然に防ぐためには、それらの日常的な監視が不可欠であり、個々の医療機関における日常的な施設内サーベイランスの実施とそれに基づいた実効ある対策が不可欠であることは言うまでもないが、個々の医療機関が、自施設における各種の薬剤耐性菌やそれらによる感染症の発生状況を相対的、客観的に自覚し評価することができる指標が必要であり、平成 12 年度から開始された、厚生労働省「院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業」は、その目的に合致しており、一層の充実と強化・発展が強く期待されている。

現在、JANIS 事業に参加を希望する医療機関は、厚生労働省が定期的に参加施設の募集をする際に、都道府県を通じて応募することになっている。しかし、その後は、自治体を離れ、参加施設はデータを直接厚生労働省に提出し、集計解析結果は、専用のホームページを通じて参加医療施設に個別に返されるとともに、その概要が一般公開されている。万一、特定の医療機関で院内感染症のアウトブレイクが疑われる事態が発生した場合、自治体の保健所や衛生主管部局は、近隣の医療機関における状況を参考情報として必要とする場合などもあり、その際に、JANIS 事業データが重要となる場合も多いと考えられる。そこで、今後の JANIS 事業の改善の際には、地方自治体の衛生主管部局も JANIS 事業データを共有できるシステムの構築も視野に入れて検討を進める必要がある。さらに、平成 19 年度の医療法および施行規則の改正を受け、地方自治体の行政検査・試験機関である地方衛生研究所に対し、薬剤耐性の解析依頼が増加する可能性があり、その対応能力を向上させる必要がある。

VRE については、国内では未だ散発的に検出されるのが実態であるが、既に、北部九州地域、京都地域、埼玉県などで、幾つかの医療機関において大規模なアウトブレイクが発生している。これらの地域では、医療機関の間を患者が転医するのに伴って VRE の施設間伝播が発生している可能性が高いが、現状では、入院時の耐性菌のスクリーニング検査は保険適用となっていないため、適切に培養検査が行えず、水際で必要な対策を実施する機会を逃し、それが特定の薬剤耐性菌の医療施設間拡散の原因の一つとなっていることが指摘されている。したがって、VRE を含む多剤耐性菌のこれ以上の伝播拡散を防ぐため、入院時のスクリーニング検査の充実とともに、医療機関を指導監督する権限と責任を有する地方自治体を中心となり、地域の専門家の協力を得て、VRE や MDRP など感染症法で報告が求められている特定の多剤耐性菌や最近海外で新たに問題となりつつある多剤耐性アシネトバクターなどの実態把握のための調査体制の整備や組織化とともに実効ある対策の強化が必要となっている。

研究班では、これまで、汎アミノ配糖体超高度耐性に関与する 16S rRNA メチレーゼやフルオロキノロンの排出に関与する QepA を世界に先駆けて発見し、注意を喚起して来た。また、最近、国内で第三世代セファロスポリンを分解する CTX-M-型β-ラクタマーゼを産生するセフトキサシム/セフトリアキソン耐性大腸菌が急激に増加している分子疫学的背景とともに、海外旅行から帰国した下痢症患者より分離した赤痢菌が保有する新型の CTX-M-型β-ラクタマーゼ (CTX-M-64) を発見した。さらに、これまでペニシリンに対しては、一律感受性を示し、耐性株は存在しないと考えられて来た、B 群連鎖球菌においても、近年、ペニシリンに抵抗性を獲得した株が出現し、それらを詳しく解析した結果、ペニシリンの標的分子の一つである PBP2X に変異を獲得した株であることが明らかとなった。このように、MRSA や VRE 以外にも、上述した耐性菌に加え、染色体依存性に OXA-型カルバペネメースを産生する多剤耐性アシネトバクターや結核菌や非結核性抗酸菌の多剤耐性菌など、次々と新しい薬剤耐性の分子機構を獲得した新型薬剤耐性菌が医療現場で出現・蔓延しつつある。そこで、それらの新型耐性菌については、新興病原菌という観点に立ち、それらに対する分子、遺伝子レベルでの基礎的な研究の推進と強化が急務となっている。

F. 健康危険情報

VRE については、京都など特定の地域において検出率が高くなっており、感染症法のみならず、医療法の観点からも VRE の地域的な蔓延や施設間の伝播拡散を防止するため、当該地方自治体は、地域の基幹病院や専門家とも連携し、実効ある積極的な調査と対策を実施すること急務となっている。

また、OXA-型β-ラクタマーゼ（カルバペネム系）を産生し、カルバペネム系、フルオロキノロン系、アミノ配糖体系の3系統全ての抗菌薬に多剤耐性を獲得した *Acinetobacter* 属菌が、海外（韓国を含む）で増加し問題となっているが、この種の多剤耐性菌が、最近、国内の複数の医療機関でも散発的に分離されるようになり、一部では、複数の患者より検出され、院内感染の発生が疑われる事例も発生しているため、VRE や多剤耐性緑膿菌(MDRP)とともに、今後、臨床現場でその動向を監視して行く必要がある。

当研究班が世界で最初にその存在を確認したペニシリン低感性 B 群連鎖球菌(PRGBS)の現在の分離率は 2%程度と推定される。幸い、それらの多くは、高齢者の喀痰などからの分離であり、新生児の血液や髄液からは検出されていない。しかし、今後、新生児や小児の侵襲性感染症の起原菌として PRGBS が分離されるようになる可能性もあり、その動向を監視する必要がある。

G. 研究発表（研究代表者関連分のみ）

（分担研究者の分は各々の分担報告書に記載）

1. 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.

2. 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.

3. 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.

4. 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.

5. 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.

6. 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.

7. 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.

H. 知的所有権の取得状況
該当するものなし

Ⅱ. 分担研究報告書

頁数の関係で図、表、資料について一部縮小しました。

「薬剤耐性菌等に関する研究」

—臨床分離株の薬剤感受性成績調査および薬剤感受性検査の変動因子と
精度管理に関する研究—

研究分担者:小崎繁昭(社団法人日本臨床衛生検査技師会会長)

研究要旨

平成19年、20年のJANIS検査部門データ集計し、平成18年からの3年間の薬剤耐性率の変動について比較した。検討した3年間において薬剤耐性率に大きな変動は認められず、多剤耐性緑膿菌は調査施設の約25%で検出されていた。測定機種間に検出率の差が認められていた *S. pneumoniae* について、遺伝子検索によりPCGの耐性を調査し、施設データおよびE-テストデータと比較したが、耐性の高い菌株ではデータの一致率は良好であったが、耐性の低い菌株における一致率は低かった。協力施設から収集したESBL、メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌については、耐性遺伝子による型別を実施し、ESBLではCTX-3が多く、メタロ-β-ラクタマーゼではIMP-1が多い結果であった。さらに、臨床上重篤な髄膜炎起因菌株を収集し、分離頻度や薬剤耐性率、肺炎球菌ワクチンのカバー率について集計を行った。分離菌は *H. influenzae* と *S. pneumoniae* で全分離菌株の80%以上を占めており、ワクチンカバー率は7価ワクチンで64.7%、13価ワクチン82.4%であった。

研究協力者:(日本臨床衛生検査技師会薬剤耐性菌調査部会)

長沢光章(東北大学病院), 佐藤智明(静岡県立静岡がんセンター), 郡美夫(千葉県立海浜病院), 犬塚和久(安城更生病院)

A. 目的

薬剤耐性菌による感染症の診断・治療において微生物検査結果は不可欠である。また、菌検出状況や薬剤耐性率の推移を把握することも臨床に有用な情報となる。しかし、正確な検査結果やそれに基づく集計データでなければ有用な情報とならばばかりか、誤った情報となってしまうため、微生物検査の精度管理は重要である。

我々は平成9年より全国の医療施設の協力を得て、日常検査にて実施された薬剤感受性成績を収集して主要検出菌の薬剤耐性率の年次推移を報告してきた¹⁻⁴⁾。また、集計単位により薬剤耐性率に差が認められることを指摘し、*Staphylococcus* 属や腸内細菌、緑膿菌等ではこの変動要因の多くが“カテゴリ変換基準の誤り”であることを解明した⁵⁾。今回は、平成19年、20年のJANIS検査部門データを集計し、平成18年からの3年間の薬剤耐性率の変動について検討をした。感受性成績の変動因子の検討は、測定機種間差や施設間差がもつとも問題となっているペニシリン耐性肺炎球菌について遺伝子検査を用いて詳細な検討を行った。また、ESBL産生菌株、メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌についても遺伝子検索

を行い、分離菌の型別分離状況について検討した。さらに、臨床上重篤な髄膜炎起因菌株を収集し、菌分離状況および、肺炎球菌の血清型別による肺炎球菌ワクチンのカバー率について検討を行った。

B. 研究材料および方法

本研究内容は①薬剤感受性成績の集計、② *S. pneumoniae* の遺伝子検査データからのMIC値の検証、③ESBL、メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の耐性遺伝子型別、④髄膜炎起因菌の菌分離状況および、*S. pneumoniae* の血清型別と肺炎球菌ワクチンのカバー率の検討である。調査方法の詳細は以下に述べる通りである。

1. 薬剤感受性成績の集計

平成18年は、病院長の承諾が得られた協力施設の検査室から収集した1年間の薬剤感受性検査成績を対象とし、平成19年、20年は使用承諾の得られた施設のJANIS検査部門データのうち、平成19年、20年それぞれ9月の1か月分のデータを対象とし、薬剤耐性率の年次推移および、MDRPの検出状況を平成18年と比較した。

2. *S. pneumoniae* のMIC値の検証

平成19年に協力施設から分与された *S. pneumoniae* 337株のうち、82株について菌種の同定と薬剤耐性遺伝子を検索するためにPCRを実施した。すなわち、*lytA* 遺伝子、*pbp1a* 遺伝子、*pbp2x* 遺伝子、*pbp2b* 遺伝子、*mefA* 遺伝子、*ermB* 遺伝子の

各遺伝子の検索である。PCR 検査における遺伝子変異の数による PSSP, PISP, PRSP の判定結果と施設データ, E-テスト法による判定結果と比較した。測定機種間差については、平成 20 年 JANIS データを CLSI の新判定基準⁹⁾に従って S, I, R 判定し、各測定機種種の PRSP 率について検討した。

3. 薬剤耐性遺伝子型別

協力施設から収集した ESBL 産生菌株(疑い含む)129 株, メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌株(疑い含む)42 株について、薬剤耐性遺伝子検索を行い、遺伝子型別を行った。検索した薬剤耐性遺伝子は ESBL では CTX-1 遺伝子, CTX-2 遺伝子, CTX-3 遺伝子, メタロ-β-ラクタマーゼは, IMP-1 遺伝子, IMP-2 遺伝子, VIM-2 遺伝子とした。ESBL では TEM 型と SHV 型の型別も行った。

4. 髄膜炎起因菌の検出状況の集計

平成 20 年 4 月以降に協力施設で髄液より分離された *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *N. meningitidis*, *S. agalactiae*, *E. coli* の 6 菌種および患者データを収集し、平成 18 年, 19 年に収集した菌株のデータとあわせて、3 年間の菌種別分離頻度, *H. influenzae*, *S. pneumoniae* の薬剤耐性率の推移等について検討した。また、髄液由来 *S. pneumoniae* 68 株の血清型別を行い、肺炎球菌ワクチンのカバー率について検討した。

C. 研究結果

1. 薬剤感受性成績の集計

1) *S. aureus* (MRSA, MSSA) (表 1)

平成 18 年～平成 19 年の 3 年間で薬剤耐性率に変化は認められなかった。平成 19 年, 20 年の MRSA の MIPIC の耐性率が 100%でないことは、MRSA の判定を MIPIC の薬剤感受性成績以外の *mecA* 検出等により行っている施設があることが推定された。また、CLSI では、MRSA の β-ラクタム系薬剤の感受性成績は“感性:S”と報告しないことが決められているが、例年同様 β-ラクタム系薬剤の中で、CMZ の薬剤耐性率が最も低い結果であった。フルオロキノロン系薬剤の NFLX, OFLX は 3 年間の薬剤耐性に大きな変動を認めたが、検査菌株数が非常に少ないためと思われた。VCM 耐性は平成 20 年に MRSA で 0.1%報告されていたが、精査が必要である。

2) *E. faecalis*, *E. faecium* (表 2)

E. faecalis では MINO, ST 合剤で平成 18 年と平成

19, 20 年で耐性率に大きな差を認めた。同様に *E. faecium* においても ABPC, IPM, EM, MINO, LVFX, CPFY で耐性率に大きな差を認めた。VCM 耐性菌は、*E. faecium* で増加傾向が認められ、精査と共に拡散させないための対策が必要である。

3) *S. pneumoniae* (表 3)

MIPIC, CPZ/SBT の耐性率は平成 18 年, 20 年と比較して平成 19 年の耐性率が高い結果であった。PCG 耐性率は例年 20%前後であるが、平成 19 年は 25.1%とやや高値であったが、平成 18 年, 20 年は 16.8%, 15.9%と例年と同様の耐性率であった。

4) *P. aeruginosa* (表 4)

P. aeruginosa の耐性率は平成 18 年～20 年の 3 年間に於いてほとんど変動は認められなかった。MDRP の判定薬剤である IPM の耐性率は 18.2%～19.8%, AMK の耐性率は 3.9%～4.8%, CPFY の耐性率は 16.6%～17.2%であった。

5) *H. influenzae* (表 5)

ABPC の耐性率が平成 18 年 28.2%から平成 20 年は 37.2%と増加していた。今回の集計では薬剤耐性菌として問題となる BLNAR の検出頻度については集計できないが、ABPC の耐性率の増加から BLNAR の増加が推定される。ABPC 以外の薬剤では 3 年間に耐性率に大きな変動は認められなかった。

6) *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* (表 6)

K. pneumoniae の PIPC の薬剤耐性率が平成 18 年(19.3%)に比較し、平成 19 年, 20 年(33.3%, 32.7%)は耐性率が高い結果であった。昨年我々は *K. pneumoniae* の PIPC は MIC 値に関係なく“R(耐性)”と判定する機種があることを報告したが、今回の集計の中にどの程度この機種によるデータが含まれているかは不明である。その他の薬剤に関しては、3 菌種とも 3 年間に大きな変動は認められなかった。

7) MDRP 分離状況 (表 7, 8, 9)

MDRP は“カルバペネム系抗菌薬, アミノグリコシド系抗菌薬, フルオロキノロン系抗菌薬に同時耐性を示す *P. aeruginosa*”と定義されている。日常検査における薬剤感受性検査では、系統別に代表薬剤を選択して検査をしているのが現状であり、MDRP の判定に用いられる薬剤は施設により異なるのが現状である。表 7 に示したように判定に用いる薬剤により MDRP 率が約 2%～約 4%と差が認められ、アミノグリコシド系薬に GM, フルオロキノロン系薬に LVFX を用いた場合の MDRP 率が他の組み合わせと比較してやや高い結果となった。

測定器種別の MDRP 率は、集計年により高い検出率を示す測定機種が異なり、施設によるアウトブレイク等が影響しているものと推定された。

MDRP が高頻度に分離される材料は尿、喀痰、膿、糞便であった。糞便から検出される *P. aeruginosa* は、日常検査では薬剤感受性検査の対象とならない場合が多いが、優位に分離された場合は薬剤感受性検査を実施し、MDRP の早期発見、拡散防止に努めることが必要である。

2. *S. pneumoniae* の PRSP 率の検証 (表 10,11)

遺伝子検査を実施した 82 株のうち *lytA* 遺伝子陽性となった株は 79 株であり、3 株は *S. pneumoniae* 意外と判定された。*S. pneumoniae* と判定された 79 株のうち *pbp* の変異が見られなかった株は 1 株、*pbp2x* 変異株が 2 株、*pbp2b* 変異株が 2 株、*pbp1a* + *pbp2x* 変異株が 1 株、*pbp1a* + *pbp2b* 変異株が 2 株、*pbp2x* + *pbp2b* 変異株が 3 株、*pbp1a* + *pbp2x* + *pbp2b* 変異株が 68 株であった。*pbp1a* + *pbp2x* 変異株、*pbp2x* + *pbp2b* 変異株、*pbp1a* + *pbp2x* + *pbp2b* 変異株では施設データ、E-テストデータともに *pbp* 変異による耐性度と 90% 以上の一致率を示したが、他の *pbp* 変異株の耐性度の一致率は低かった。

また、平成 19 年、20 年のデータを CLSI の新判定基準によりカテゴリー判定した場合、全体で感性的 (S) が 97.4%、中間 (I) が 2.3%、耐性 (R) が 0.3% であった。測定機種別の耐性 (R) 率は 0% ~ 1.5% と PRSP 率に測定機種間差は認められなかった。しかし、中間 (12.3%)、耐性 (1.5%) の両カテゴリーが 10% を超える機種が認められた。マクロライド耐性遺伝子である *mefA* 遺伝子、*ermB* 遺伝子を保有していた菌株は、*mefA* は 44 株 (55.7%)、*ermB* は 43 株 (54.4%) であった。

3. 薬剤耐性遺伝子型別

協力施設から収集したメタロ-β-ラクタマーゼ産生株 (疑い含む) 42 株について、*IMP-1*、*IMP-2*、*VIM-2* 遺伝子の検索を行った結果、39 株 (93%) が *IMP-1* 遺伝子を保有しており、他の遺伝子は検出されなかった。ESBL に関しても協力施設から収集した 129 株について *CTX-1*、*CTX-2*、*CTX-3* 遺伝子の検索、および SHV、TEM の型別を行った結果、*CTX-1* は 24 株 (18.6%)、*CTX-2* は 17 株 (13.2%)、*CTX-3* は 68 株 (52.7%) であり、TEM 型は 56 株 (43.4%)、SHV 型は検出されなかった。

4. 髄膜炎起因菌の検出状況の集計

1) 細菌性髄膜炎起因菌の調査 (表 12, 図 1)

平成 18 年 ~ 平成 20 年に収集した細菌性髄膜炎起因菌の菌種別分離頻度を表

12 に示した。いずれの年も *H. influenzae* と *S. pneumoniae* で、全分離菌株の 80% 以上を占めていた。年齢別分離頻度では *H. influenzae* は 5 歳以下の小児での検出例が多く、*S. pneumoniae* は成人髄膜炎の主要な原因菌となっている。また *S. agalactiae* は 1 歳以下の患児から分離される例が多いものの、約 30% は成人例から検出されていた。*L. monocytogenes* は 6 例分離されているが、多くは成人由来株であった (図 1)。

2) 薬剤感受性成績 (表 13,14,15)

H. influenzae は、平成 18 年 ~ 20 年に 70 株が収集された。β-ラクタマーゼ産生株の割合は検出年により差があるが、平均すると 18% 程度であった。一方、アンピシリン感受性株は増加傾向を示し平成 20 年分離株では 83% であった (表 13)。主な抗菌薬に対する MIC₅₀ と MIC₉₀ をみると、この 3 年間大きな変化は認められなかった (表 14)。

S. pneumoniae の PCG に対する MIC 値の分布を表 15 に示した。PSSP の割合は 50% ~ 74% と調査年により大きく異なっていた。PCG 耐性株では MIC 値 1 μg/mL の株が多く認められた。

3) 血清型分布とワクチンカバー率 (図 2, 表 16)

68 株の血清型で最も多かった血清型は 12 型であり、次で 6B 型、23F 型そして 14 型、19F 型の順であった。これら 4 つの血清型で全体の 60% を占めていた。また、血清型別不能株が 7% に認められた (図 2)。

小児と成人における血清型分布をみると、小児において最も多かった血清型は 6B 型であり、次いで 14 型の順であった。一方、成人において最も多かった血清型は 12 型であり、次いで 23F 型、19F 型の順であり、両者に違いが認められた (表 16)。

肺炎球菌ワクチンのカバー率は、7 価肺炎球菌結合型ワクチンでは 50.0% であり、13 価肺炎球菌結合型ワクチンでは 63.2% であった。年齢が不明であった 1 株を除く 67 株を対象に小児、成人でのワクチンカバー率をみると、小児由来株では 7 価ワクチンで 64.7%、13 価ワクチン 82.4% であった。一方、成人でのカバー率は 7 価ワクチン 46.0%、13 価ワクチン 58.0% であった。

D. 考察