

## 表2

### ◆院内感染対策サーベイランス(JANIS)に関するアンケート結果:全入院部門向け

アンケート入力枚数合計 

244
-----

Q13	還元情報の存在を知っていますか？		
	1.知っている	224	91.8%
	2.知らない	19	7.8%
	未回答	1	0.4%
Q14	(1) 問13で1に該当する場合、還元情報を		
	1.閲覧している	197	87.9%
	2.閲覧していない	26	11.6%
	未回答	1	0.4%
Q14	(2) 上記で2に該当する場合、その理由をご記入ください ※ フリー入力欄のため、本シートでは省略		
Q15	問14で1に該当する場合、還元情報を閲覧する頻度について、次の中から一つお選びください		
	1.毎月	97	39.8%
	2.年に数回	95	38.9%
	3.年に1回	7	2.9%
Q16	感染対策において、還元情報を		
	1.活用している	95	48.2%
	2.活用していない	70	35.5%
	未回答	32	16.2%
Q16	(1) 還元情報の活用例、または還元情報を活用していない理由をご記入ください (表3を参照)		

表3 全入院部門Q16 (1) 自由記載

「活用している」と答えるには、あまりにも情報内容が少ないように思います。

箱ひげ図以外はわかりにくい。自施設で病棟毎など以前からデータをグラフにしてフィードバックしておりそちらで役に立っており、他の条件の違う施設と比較しても何と云っていいかわからない。明らかにはずれ値だったりすると話は別でしょうが・・・

・ ICCとして報告 ボックスとして掲載	・ 毎月分を印刷しファイルに閉じる	・ 毎月発行する感染情報（院内用）紙にト
・ アウトブレイクであれば情報が還元される前に既に対応が終わっていることが多い。・ 発症例だけをサーベイランスしても早期対応ができるとは思えない。		
・ 委員会での情報共有	・ 院内での情報提供	
・ 院内の週報と月報だけで対応できている。・ 活用したいが、院内の活動にどういった形で組み入れていかまだ思い付いていない。		
・ 感染対策委員会への報告 ・ 院内ホームページ上への掲載（抜粋して）		
・ 感染率の推移をグラフ化して、院内感染対策委員会へ報告と共に、アウトブレイク発見の指標の1つにしている。・ 院内インフラを利用して、スタッフであれば情報を自由に閲覧できるようにしている。		
・ 当院のデータを全国のデータを比較し、耐性菌対策が有効であるか評価している。・ 当院の耐性菌の特徴を把握し、改善策を検討している。		
・ 毎月のICCで結果を報告している ・ 学会での報告		
10月より開始のため（始めたばかりのため）		
ICT・ICT会議に、還元された感染率、罹患率、箱ひげ図などを提示している（毎月）		
ICTや委員会活動の資料		
MRSA患者および発生数を地院（全国レベル）と比較している		
開かないファイルがある		
ある程度データが集まったら感染対策委員会へ報告する予定です。		
医局で耐性菌の推移と抗菌薬の種類別の推移を比較し、特定の抗菌薬の過剰処方による耐性菌の発生増加を指摘するなどしている。		
院内&全国の比較データとて、Newsにて情報発信		
院内感染対策委員会会議にて資料として提出している		
院内感染対策委員会で還元情報を発表し、病院全体に周知している。		
院内感染対策委員会での報告		
院内感染対策委員会などで報告。		
院内感染対策委員会に毎月報告		
院内感染対策会議で活用している		
院内感染予防対策委員会にて社会的な状況と当院の状況を比較しやすいので報告している		
院内に情報システムがあるので、それを参照		
主に「全施設との比較」を参考にし、当院における院内感染対策を見直す機会にしています。		
主に院内で作成した感染情報を活用していますが、JANISも活用したいと思っております		
各部署の感染対策担当者（RDR、RMS等）の毎月の定例会議で報告し、啓発に役立てている。		
活用したいが、どのように取り入れ比較したらいいかわからない。		
活用できるほどの情報が還元されていない		
活用方法について検討中である		
加入して一年未満であるため、一年経過した時点で活用したいと考えています。		
還元情報等によりアウトブレイクが予想された時に活用したいと考えています。		
還元情報は他院との比較には役に立つと思うが、具体的な対策に活用できるとは思えない。あくまで全国的なサーベイランスとして、厚労省側がデータを活用し、有効な対策を考案してほしい。または警告を出すなどしてほしい。		
還元情報を見ていないため活用していない。		
感染か保菌かの判断が難しい症例も多くあり、又他の施設と同一の判定基準で感染・保菌の区別をしているとは思えないので、自施設と他施設との比較の意義が低いと思われるため。		
感染症の判定が難しく、判定者間のばらつきが予測されるためデータの信頼性が低い。		
感染対策委員会での情報共有		
感染対策委員会で報告		
感染対策委員会で報告し共有する		
感染対策委員会で報告している		
感染対策委員会や、病棟感染リンクナース委員会時、全国と比較し、当院の感染状況を説明している。		
感染対策の指標		
感染予防委員会への報告資料として用いています。		
感染率の比較、委員会での報告、職員教育への利用		

菌種及び菌株別にアウトブレイク等が生じていないか、または月別の集計を院内で作成している別の資料と比較している具体的に利用していないが参考データとして参照している

現在、院内で作成している感染情報レポートと内容がほとんど同じ点。

現在、還元情報をもとに対策を立てる状況に院内の活動がいたっていない。  
次年度より、ICDが判定をしたこの情報を活した活動をするよう計画中である。

現時点では全国傾向との一致を確認するにとどまっている段階です。

こども病院、という特異性からあまり参考にならないから。因みに、当院ではMRSAは多いが他はほとんどない（PRSPも含め）。

昨年の全国データでなく本年度のアップトゥデートな情報が欲しい

参加施設の病床数、特色が調整されていないため、自施設の感染率がどれくらいの位置にあるか比較できない。

参加して1年たったばかりなので1年分のまとめを感染対策委員会で報告し、各部門へもおろしてもらいました。

自施設の感染率が全国平均と比較してどうなのか、実施している感染対策は有効なのかを判断する基準にしている

自施設のベースラインとして活用している

充実したサーベイランスデータとなっていないため。

情報がないため活用はしていない。

情報がもう少し多くなったら活用する予定です。

情報内容がおおく、読みとくのに、時間が要する。そのため、次の入力にもなってしまい有効に活用できない。

情報の一部を印刷し、院内感染対策委員に配布・報告している。

情報量が多い。又、当院はNICVがあり、MSRAが多い。他施設と単純比較はできない。

情報量が多く、整理が困難で、院内感染対策に還元できる情報にまとめることができない。参加して1年未満なので検討している段階である。

情報量が多すぎて、当院の特徴がわかりづらい。

症例が少なく、アウトブレイク等の発見には使えない。MDRP等の1例、2例でも全国平均よりとびあげている……（データも先月のもの……）臨床から問い合わせがあった際に感染率を全国平均と比較するのに使うことがある。

症例数が少なく感染率が低い

知らなかった。還元情報というのは“JANIS（一般向け）季報・年報”の事でしょうか。

知らなかったため

前月、院内感染対策委員会にて報告している。

全国的なサーベイランスシステムであり、どのような耐性菌による感染症が派生しているかという情報を、院内へ向けても提供している。

全国的にどの位置にあるのかわからない

専門的になり、他部署の方には理解できない。興味がない職員を今後、勉強会等開いて、指導したい。意識付けしたい。

そのまま責任者へ報告する。注意すべき点を改善するよう対策する

耐性菌の薬剤の耐性率や、有効濃度などの情報を活用しています。

大変良いシステムですが、結果が2か月遅れなので、タイムリーには使えません。

他施設情報の活用に至っていない。

他施設との比較 感染対策委員会・院内へのフィードバック資料として活用

他施設との比較を行い、医局に情報提供し、注意をうながしているが、感心は今一つである。

次の感染マニュアル変更時に活用

提出情報を独自のシステムで分析しその情報を院内に還元しているため

提出する（web送信する）データ表をつくる人と、実際に、送る担当が違う人である為に知らなかった。

データ数がまだ少ない為

データの精度が今一つと思うのでサーベイランスデータを入力するのに精一杯である。他の業務も多忙であるので。

データを見ているが、対策等への活用はできていない状況

当院における薬剤耐性菌への感染率等のベースラインの把握

当院の感染率、罹患率との比較。全データの中の薬剤耐性菌感染症報告状況確認

当院は、1月より参加している為今後、還元情報を院内で活用していく予定である。

当院はかなり感染率が高く、どうしてそんなに高いのかを検証している最中です。

当院は今年1月からの参加でありデータが少ないため、活用まで進んでいない

特定菌の発生が増加した場合など原因検討を行っている

院内感染委員会でも毎月の動向を報告し毎週のICTラウンドの結果と合わせ状況の説明を行っている

どのように活用したものかよくわからない。活用の場がほとんどない。

どのように活用したら良いのかわからない。

何にも活用していないわけではありませんが、院内での感染データで、感染対策を行っています。月別ですので傾向を見るのには利用しています。労は多い割に、うまく活用できないので、どうしたらもっと有効利用できるか、悩んでいます。良い活用例があったら、知りたいです。

病院自体がサーベイランスを良く理解されていないので活用までには至っていない。もう少し時間が必要かも。

病院への報告を行う。

他施設との比較をする参考にしている。



ベンチマーク比較として、感染対策委員会で報告している

他施設と比較して、自施設で目立つ耐性菌があるかどうかの目安になる。

本院は2008年から加入しており本年度のデータはまだ提供されていないから

毎月、感染症委員会に報告し、自施設と他施設の比較等を行い、改善に努めている。

毎月、送信している件数が2~3件くらいなので、分類している項目が多すぎて、比較しにくい。

毎月院内感染対策委員会での資料として報告しているアウトブレイクの有無を監視できる。適正な抗菌化学療法を行なうための資料として使っている。

毎月院内感染対策委員会にて報告、注意喚起を行っている。

毎月のICCで活用

毎月の感染防止会議で報告を行っている

毎月のデータをICCで報告し、感染事例の動向に注している。アウトブレイクが予想される場合は病棟に出向き指導を行う。

まだ活用できるほどのデータがないため

まだ充分には活用できていませんが、自院の感染率が全国的にどうなのか判断できます

メリットが感じられない

役に立ってない

例数が少ないため

現在感染者なし

厚生労働省研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)  
分担研究報告書

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

研究分担者 山口恵三 東邦大学医学部微生物・感染症学講座 教授  
研究協力者 古谷信彦 文京学院大学保健医療技術学部 教授

研究要旨：

血液分離菌や髄液分離菌など本来無菌的な検体から分離される菌はある程度起炎性が明らかであるが、喀痰や尿などの検体から分離される菌には起炎菌のほかに多数の常在菌が含まれている。本研究では、臨床的基準に基づいた肺炎患者由来喀痰、非感染患者由来喀痰における各種検体評価法(喀痰の性状、Geckler の分類、菌量)による起炎性を検討した。非感染患者由来喀痰をコントロールとした場合、「喀痰の性状」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相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にはなかった。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。

A. 研究目的

全国の医療機関における院内感染対策を支援するために厚生労働省は平成 12 年度から「院内感染対策サーベイランス」事業を実施している。本サーベイランスのうち検査部門サーベイランスは、検査部門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ることを目的としている。事業開始当初は、検査部門サーベイランスで取り扱う検体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た。しかしながら、実際には臨床から提出される検体の多くは喀出痰、気管内採痰、気管支洗浄液などの呼吸器検体や中間尿、カテーテル尿といった泌尿器検体などであることから平成 18 年度の改訂ではこれらの検体からの分離菌についてもサーベイランスが開始されるようになった。ところが、血液、髄液などの本来無菌的な部位から採取される検体に含まれる細菌と異なり、呼吸器検体や泌尿器検体からの分離菌には多数の常在菌が含まれていることが推定される。このことは、起炎菌の分離頻度の増加や薬剤感受性の変化が集計に含まれる常在菌によって捉えにくい可能性があるということを示唆している。したがって、起炎菌の分離頻度や薬剤感受性の動向をある程度正確に把握するためには微生物検査の結果に病棟からの患者の臨床症状や血液、尿などの他の検体検査、胸部 X 線などの画像検査の結果を加えて解析する方法が最も有効であり、不可欠な方法と考えられる。しかし、実際には微生物検査を患者データとリンクさせて保存している施設はごく少数に留まっており、このような解析は簡単にはできないのが現状である。一方、検体から分離菌の起炎性を推定する方法として、喀痰の性状や塗抹染色標本の鏡検、菌量などの情報を用いて様々な基準が今まで設けられてきている。本研究では、実際の肺炎患者、非感染症患者の喀痰を用いてこれらの判定基準の再検討を行い、検査部で入手できるデータのみを用いた喀痰由来推定起炎菌の判定方法の設定を試みた。また、設定した判定方法を用いて推定起炎菌の分離頻度と薬剤感受性を求め、単純な集計と比較検討した。

## B. 研究方法

対象：平成 18 年 1 月 1 日から平成 19 年 12 月 31 日にかけて東邦大学医療センター大森病院の微生物検査室に提出された 4284 件の喀痰(分離菌数 5775 株)を対象とした。

方法：

1. 喀痰由来起炎菌の最適な判定方法の検討：肺炎患者、非感染症患者の臨床的基準をもとに肺炎患者、非感染症患者由来喀痰を抽出し、それらの喀痰について、肉眼的性状、Geckler の分類、菌種別菌量を検討することで微生物検査室における喀痰由来起炎菌の判定基準を設定した。臨床的基準では、①喀痰提出日の前後 3 日以内の体温が 38℃以上である、②喀痰提出日の前後 3 日以内の胸部 X 線で浸潤影が認められる、③検査目的が“起炎菌の同定”、“発熱の精査”、“VAP”のいずれかである、④推定感染症が“肺炎・肺化膿症”、“気道感染症”のいずれかである、ものを肺炎患者、①喀痰提出日の前後 3 日以内の体温が 38℃未満である、②喀痰提出日の前後 3 日以内の胸部 X 線で異常影が認められない、③検査目的が“監視培養”である、④感染症の疑いがない、ものを非感染症患者とみなした。
2. 設定した基準に基づいた起炎菌と全分離菌の菌種別頻度と薬剤感受性の比較：設定した微生物検査室における喀痰由来起炎菌の判定基準をもとに対象となる全ての菌の中から推定起炎菌のみを抽出し、その菌種別分離頻度をすべての菌を対象とした場合の菌種別分離頻度と比較した。黄色ブドウ球菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌、緑膿菌については薬剤感受性の比較検討も行った。



### C. 研究結果

対象期間に微生物検査室に提出された喀痰のうち検体提出の前後3日以内に体温、胸部X線所見が明らかなものは1020件、1338株であった。これらの喀痰のうち臨床的な基準に基づいた肺炎患者からの提出が明らかな喀痰は94件、120株、非感染患者からの提出が明らかな喀痰は50件、68株であった。これらの喀痰144件を用いて、起炎菌の推定に最適な基準を、①膿性喀痰、粘液性血痰、②Gecklerの分類で4、5群、③菌量が $10^6$ /ml以上、の各種起炎性の基準を組み合わせ設定した。①～③のどれか1項目のみを用いて非感染患者をコントロールとした場合のオッズ比は、①のみを起炎菌の基準とした場合で3.23、②のみを基準とした場合で1.45、③のみを基準とした場合は0.57であった(表1)。①～③の項目のいずれか2項目、あるいは3項目のすべてを基準とした場合のオッズ比は0.87～2.35であった(表2)。以上より、喀痰の肉眼的性状が膿性、あるいは粘液血性であるものを肺炎患者由来喀痰とみなし、対象期間に微生物検査室に提出された喀痰の中から肺炎患者由来喀痰を抽出した。その結果、4284件の喀痰(分離菌数5775株)のうち1543件(分離菌数2055株)が肺炎患者由来喀痰であると推定された。これらの肺炎患者由来喀痰の菌種別分離頻度には上位菌に *Corynebacterium* spp.、*Staphylococcus epidermidis*、Coagulase negative *Staphylococci*(CNS)、*Enterococcus faecalis*、*Enterococcus faecium*、*Haemophilus parainfluenzae* といった臨床検体からよく分離されるが、通常は起炎

性が低いとみなされている菌(表3)が含まれていたため、それらは起炎菌の集計から除外するようにした。

単純集計との分離菌の比較では起炎菌の集計から除外した *Corynebacterium* spp. を除くと上位10菌種を構成している菌種および分離頻度はほとんど変化はみられなかった(図1、表4)。黄色ブドウ球菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌、緑膿菌における全分離菌と起炎菌の薬剤感受性の比較でもほとんど差はみられなかった(表5、表6)。しかし、緑膿菌では、2剤耐性のものが全緑膿菌の6.9%を占めていたのに対し、起炎菌となっているものは全起炎緑膿菌の3.8%(全緑膿菌の1.7%)にすぎず、一方、3剤耐性のものは全緑膿菌の1.9%を占めており、起炎菌となっているものは全起炎緑膿菌の2.4%(全緑膿菌の1.0%)であった(表7)。

### D. 考察

各医療機関の微生物検査室には患者背景データの収集、検査項目、検査方法などにおいて当然のことながら施設間差がみられる。一方、JANIS検査部門サーベイランスはナショナルサーベイランスであり、施設間差とは全く関係なく多くの施設が参加している。このようなことから本サーベイランスは当初、起炎性がある程度明らかであり、患者背景データの収集がほとんど必要でない血液及び髄液に的を絞ってサーベイランスを実施してきた。しかし、微生物検査室に提出される検体の多くは呼吸器由来あるいは尿由来の検体であり、血液及び髄

液のみのサーベイランスだけでは薬剤耐性菌や医療関連施設感染症起炎菌の動向を把握するのに不十分ではないのかという意見もみられていた。このようなことから平成18年度の改訂では、本サーベイランスは呼吸器、尿などあらゆる検体を対象とすることとなった。ところが、呼吸器由来、尿由来といった新しく加わった検体は常在菌の汚染を受けやすいにもかかわらず、多くの施設が起炎菌と常在菌の鑑別に重要となる患者背景データを収集できないという問題が存した。それ故、今回の検討では、微生物検査室で比較的保存されている、①喀痰の肉眼的所見、②Geckler分類、③菌量、という3種類の検査データを用いて微生物検査室で使用するののできる起炎菌の判定基準を設定した。また、単純な分離菌の菌種別分離頻度や薬剤感受性の集計・解析結果が起炎菌の菌種別分離頻度や薬剤感受性の集計・解析結果とほぼ一致するならば起炎菌の菌種別分離頻度や薬剤感受性の集計・解析は必要ないと考えられるので両者の比較検討も行った。起炎菌の判定基準の設定では、「喀痰の肉眼的性状」に基づくものがオッズ比3.23と最も高く、最適であると考えられた。しかし、菌量による判定はオッズ比0.57であり、起炎性の判定という点では前二者に及ばないことが示唆された。Meduri<sup>1)</sup>やWuら<sup>2)</sup>の検討からは検体が気管支洗浄液であるならば、10<sup>6</sup>/ml以上の菌量で分離された菌は肺組織の培養と80～90%の一致率を示し、吸引喀痰では10<sup>5</sup>/ml以上の菌量で分離された菌は感度92.8%、特異度80.0%で起炎菌とみなすことができるとしている。我々の実施した喀痰の定量培養の結果では、10<sup>6</sup>/ml以上の菌量で分離

された菌を起炎菌とみなす場合で感度は60.6%、特異度は27.1%にすぎなかった。喀痰の定量培養で、菌量が起炎性の判定に適さなかった理由として、長期入院や検体提出日までの挿管、気管切開、経管栄養などが常在細菌の菌量に影響を及ぼしている可能性もあるので今後検討が必要であると思われた<sup>3)</sup>。

膿性痰及び粘性性血痰から分離された菌を起炎菌とみなした場合の菌種別分離頻度ではIsenberg HDらの検討で起炎性が低いとされる菌も高頻度で分離されていた。この原因として、①真の起炎菌との複数菌としての分離、②検体提出前の抗菌薬投与による真の起炎菌の消失、③起炎菌、の可能性が考えられたが、今回はIsenberg HDら<sup>4)</sup>の検討に準じてこれらの菌はすべて常在菌とみなした。但し、①、②については今後検討を要するものと考えられる。また、他の施設においても同様な方法で同じ判定基準が得られるか否かの検討は実施しなければならない。

全喀痰からの分離菌の菌種別頻度と薬剤感受性の集計・解析結果は、設定した判定基準による起炎菌の菌種別分離頻度や薬剤感受性の集計・解析結果とほぼ一致した。しかし、全喀痰からの分離緑膿菌における多剤耐性緑膿菌、特に2剤耐性緑膿菌の分離頻度は起炎緑膿菌における分離頻度の約半分の頻度であった。以上のことから、単純な分離菌の薬剤感受性の集計・解析結果と起炎菌の薬剤感受性の集計・解析結果を比較することは、耐性菌感染症の動向を予測する上で重要なことであると考えられた<sup>5,6)</sup>。



E. 文献

- 1) Meduri GU: Diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Infect Dis Clin North Am*, 7:295-329, 1993.
- 2) Wu CL, Yang DI, Wang NY, et al.: Quantitative culture of endotracheal aspirates in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia in patients with treatment failure. *Chest* 122:662-668, 2002.
- 3) Luna CM, Chirino A: Qualitative cultures in ventilator-associated pneumonia - Can they be used with confidence?. *Crit Care* 8:425-426, 2004.
- 4) Isenberg HD, D'Aamato RF: Indigenous and pathogenic microorganisms of humans. *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. (Balows A, et al.), ASM, Washington DC, pp5-18, 1995.
- 5) Clinical Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Eighteenth informational supplement, M100-S18, Vol. 28 No. 1, 2008.
- 6) Merrer J, Santoli F, et al.: "Colonization pressure" and risk of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 21:718-723, 2000.

F. 研究発表

1. 論文発表  
特になし
2. 学会発表  
特になし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし

表1. 肺炎例、非感染例の喀痰の評価

—1項目のみを用いた場合—

① 喀痰の性状

	肺炎例	非感染例
膿性喀痰 膿性、粘液性血痰 (n=52)	42/52 (80.8%)	10/52 (19.2%)
粘性、漿液性喀痰 (n=92)	52/92 (56.5%)	40/92 (43.5%)

② Gecklerの分類

	肺炎例	非感染例
4群、5群 (n=51)	36/51 (70.6%)	15/51 (29.4%)
4群、5群以外 (n=93)	58/93 (62.4%)	35/93 (37.6%)

③ 菌量

	肺炎例	非感染例
$\geq 10^6$ /ml (n=94)	57/94 (60.6%)	37/94 (39.4%)
$< 10^6$ /ml (n=48)	35/48 (72.9%)	13/48 (27.1%)

オッズ比

- ① 3.23
- ② 1.45
- ③ 0.57

表2. 肺炎例、非感染例の喀痰の評価

—2項目あるいは3項目全てを用いた場合—

各基準の組合せ		肺炎例	非感染例	オッズ比
① and ②	(+)	18/24 (75.0%)	6/24 (25.0%)	1.74
	(-)	76/120 (63.3%)	44/120 (36.7%)	
② and ③	(+)	23/35 (65.7%)	12/35 (34.3%)	1.03
	(-)	71/109 (65.1%)	38/109 (34.9%)	
③ and ①	(+)	25/33 (75.8%)	8/33 (24.2%)	1.90
	(-)	69/111 (62.2%)	42/111 (37.8%)	
((① and ②) or (② and ③))	(+)	31/43 (72.1%)	12/43 (27.9%)	1.56
	(-)	63/101 (62.4%)	38/101 (37.6%)	
((② and ③) or (③ and ①))	(+)	38/53 (71.7%)	15/53 (28.3%)	1.58
	(-)	56/91 (61.5%)	35/91 (38.5%)	
((① and ②) or (③ and ①))	(+)	32/41 (78.0%)	9/41 (22.0%)	2.35
	(-)	62/103 (60.2%)	41/103 (39.8%)	
((① and ②) or (② and ③) or (③ and ①))	(+)	45/60 (75.0%)	15/60 (25.0%)	2.14
	(-)	49/84 (58.3%)	35/84 (41.7%)	
① and ② and ③	(+)	10/16 (62.5%)	6/16 (37.5%)	0.87
	(-)	84/128 (65.7%)	44/128 (34.3%)	

- ① 喀痰の性状:(+)は、膿性喀痰、膿性血痰、粘液性血痰
- ② Gecklerの分類:(+)は、4群、5群
- ③ 菌量:(+)は、 $\geq 10^6$ /ml

表3. 喀痰の性状による起炎菌の分離頻度

菌種名	菌数	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	562	27.3%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	270	13.1%
<i>Haemophilus influenzae</i>	189	9.2%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	165	8.0%
<i>Candida albicans</i>	89	4.3%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	83	4.0%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	82	4.0%
<i>Corynebacterium</i> spp.	68	3.2%
<i>Escherichia coli</i>	63	3.1%
<i>Branhamella catarrhalis</i>	59	2.9%
<i>Serratia marcescens</i>	36	1.8%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	33	1.6%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	27	1.3%
<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	27	1.3%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	26	1.3%
<i>Enterobacter cloacae</i>	24	1.2%
CNS	21	1.0%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	20	1.0%
<i>Enterococcus faecalis</i>	19	0.9%
<i>Candida</i> spp.	18	0.9%
<i>Streptococcus milleri</i> group	16	0.8%
<i>Klebsiella</i> spp.	12	0.6%
<i>Proteus mirabilis</i>	12	0.6%
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	11	0.5%
<i>Enterococcus faecium</i>	10	0.5%
その他	115	5.6%
総計	2055	100.0%

呼吸器由来材料からの分離菌の種類と起炎性との関係  
(Shimizu HD, D Amato RF, ASM, 1995)

菌種名	分離頻度	起炎性	菌種名	分離頻度	起炎性
<i>Staphylococcus aureus</i>	A 2	2	<i>Escherichia coli</i>	B 2	2
<i>Staphylococcus</i> spp.	A 1	1	<i>Fusobacterium</i> spp.	C 2	2
<i>Micrococcus</i> spp.	B 2	2	<i>Francisella tularensis</i>	C 3	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	B 2	2	<i>Selenomonas</i> spp.	C 1	1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A 2	2	<i>Papillotreponema</i> spp.	A 2	2
<i>Streptococcus</i> spp.	C 1	1	<i>Clostridium</i> spp.	B 2	2
<i>Enterococcus</i> spp.	C 1	1	<i>Bifidobacterium</i> spp.	B 1	1
<i>Bacillus anthracis</i>	B 1	1	<i>Lactobacillus</i> spp.	B 1	1
<i>Bacillus</i> spp.	C 3	3	<i>Yersinia</i> spp.	A 1	1
<i>Corynebacterium diptheriae</i>	C 3	3	<i>Bacteroides</i> spp.	A 2	2
<i>Corynebacterium</i> spp.	B 1	1	<i>Prevotella</i> spp.	A 2	2
<i>Nisseria gonorrhoeae</i>	C 3	3	<i>Haemophilus</i> spp.	A 2	2
<i>Nisseria meningitidis</i>	B 2	2	<i>Fusobacterium</i> spp.	A 2	2
<i>Nisseria</i> spp.	A 1	1	<i>Actinomyces</i> spp.	A 2	2
<i>Moraxella catarrhalis</i>	B 2	2	<i>Candida</i> spp.	B 2	2
<i>Moraxella</i> spp.	B 1	1	<i>Aspergillus</i> spp.	B 2	2
<i>Kingella</i> spp.	C 2	2	<i>Cryptosporidium parvum</i>	C 3	3
<i>Acinetobacter</i> spp.	B 2	2	<i>Mucor</i> spp.	C 2	2
<i>Haemophilus influenzae</i>	B 2	2	<i>Penicillium</i> spp.	C 3	3
<i>Haemophilus</i> spp.	A 1	1	<i>Chlamydia</i> spp.	B 3	3
<i>Pasteurella</i> spp.	C 2	2	<i>Mycoplasma</i> spp.	B 2	2
Enterobacteriaceae	B 2	2	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	B 3	3
<i>Pseudomonas</i> spp.	B 2	2	<i>Mycobacterium</i> spp.	B 2	2
<i>Brevitella pertussis</i>	B 3	3	<i>Neisseria</i> spp.	B 2	2
<i>Brevitella</i> spp.	B 1	1	<i>Trapania</i> spp.	B 2	2
<i>Legionella</i> spp.	C 3	3	<i>Influenza virus</i>	B 3	3
<i>Vibrio</i> spp.	C 3	3	<i>Respiratory syncytial virus</i>	B 3	3
<i>Brevitella</i> spp.	C 3	3	<i>Eggsart-Barr virus</i>	C 2	2
<i>Campylobacter</i> spp.	B 2	2	<i>Measles virus</i>	B 3	3
<i>Candidobacterium</i> spp.	B 1	1	<i>Rhinovirus</i>	B 2	2
<i>Candidobacterium</i> spp.	B 1	1	<i>Cytomegalovirus</i>	B 3	3

A: 臨床材料から通常よく分離, B: 時々分離, C: まれに分離される  
1: 通常は起炎性が低い, 2: 時々起炎性になる, 3: 起炎性の可能性

図1. 表4. 分離菌の単純集計と起炎菌の集計との比較

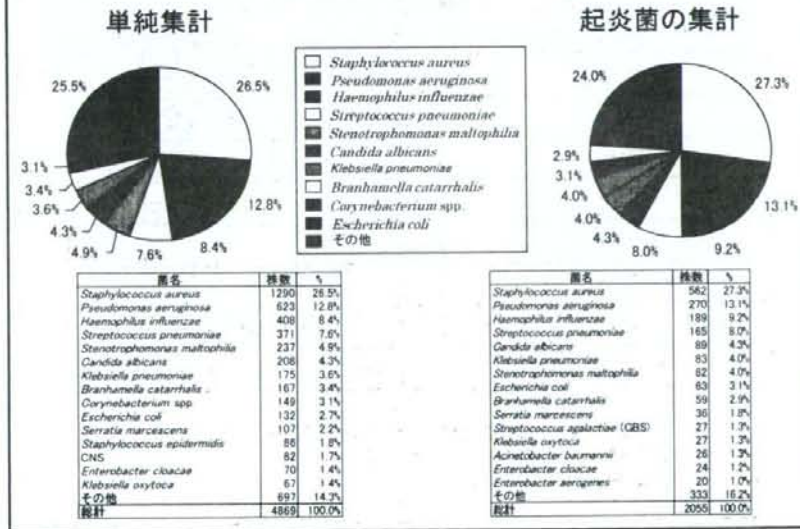




表5.単純分離菌と起炎菌の薬剤感受性の比較

黄色ブドウ球菌

肺炎球菌

MPIPC

PCG

	0.5	1	2	4	8	>8	
分離菌	23.4%	27.0%	27.3%	27.5%	27.8%	28.2%	100.0%
起炎菌	28.2%	29.4%	29.1%	30.4%	30.9%	30.8%	100.0%

	0.5	1	2	4	8	>8	
分離菌	44.3%	51.0%	55.7%	66.7%	89.0%	98.8%	100.0%
起炎菌	39.4%	44.3%	48.4%	63.9%	86.5%	99.4%	100.0%

ABK

CAM

	0.5	1	2	4	8	>8	
分離菌	4.4%	50.8%	89.8%	97.6%	99.9%	100.0%	100.0%
起炎菌	3.9%	50.7%	89.9%	98.9%	99.8%	100.0%	100.0%

	0.5	1	2	4	8	>8	
分離菌	10.4%	10.4%	10.4%	14.5%	21.9%	29.1%	100.0%
起炎菌	14.2%	14.2%	14.2%	17.4%	24.2%	40.6%	100.0%

VCM

LVFX

	4	8				
分離菌	92.6%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
起炎菌	92.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

	4	8					
分離菌	10.4%	10.4%	10.4%	14.5%	21.9%	29.1%	100.0%
起炎菌	14.2%	14.2%	14.2%	17.4%	24.2%	40.6%	100.0%

LZD

	8	16	>16			
分離菌	2.2%	68.1%	99.9%	100.0%	100.0%	100.0%
起炎菌	2.4%	64.8%	99.8%	100.0%	100.0%	100.0%

黄色ブドウ球菌:単純分離菌 930株  
起炎菌 415株  
肺炎球菌:単純分離菌 345株  
起炎菌 155株

表6.単純分離菌と起炎菌の薬剤感受性の比較

インフルエンザ菌

緑膿菌

ABPC

IPM

	1	2	4	8	16	>16	
分離菌	29.0%	36.1%	49.0%	69.1%	81.2%	93.9%	100.0%
起炎菌	28.4%	36.6%	53.0%	64.5%	80.9%	94.0%	100.0%

	1	2	4	8	16	>16	
分離菌	54.1%	65.2%	69.2%	74.4%	80.2%	86.8%	100.0%
起炎菌	62.7%	70.8%	72.7%	77.9%	86.2%	88.1%	100.0%

βラクタマーゼ産生株:分離菌 5.6% (22/393)  
起炎菌 6.0% (11/183)

SBT/ABPC

MEPM

	1	2	4	8	16	>16	
分離菌	30.0%	36.1%	51.4%	66.4%	84.0%	98.7%	100.0%
起炎菌	29.0%	31.1%	50.8%	59.6%	79.7%	97.0%	100.0%

	1	2	4	8			
分離菌	67.0%	75.9%	84.0%	89.8%	98.1%	98.9%	100.0%
起炎菌	71.8%	81.2%	87.6%	91.9%	96.7%	97.6%	100.0%

インフルエンザ菌:単純分離菌 393株  
起炎菌 183株  
緑膿菌:単純分離菌 481株  
起炎菌 209株

GM

	1	2	4	8			
分離菌	14.0%	32.0%	66.2%	89.2%	99.2%	99.2%	100.0%
起炎菌	14.2%	32.2%	69.3%	89.3%	99.3%	99.3%	100.0%

AMK

	1	2	4	8		
分離菌	28.3%	84.4%	98.1%	99.0%	100.0%	100.0%
起炎菌	27.0%	84.2%	98.1%	98.8%	100.0%	100.0%

LVFX

	4	8					
分離菌	69.4%	77.3%	82.4%	81.5%	88.2%	99.2%	100.0%
起炎菌	74.2%	80.4%	88.0%	82.8%	87.1%	100.0%	100.0%

CPFX

	1	2	4	8			
分離菌	75.7%	81.1%	87.2%	92.6%	92.6%	98.8%	100.0%
起炎菌	78.9%	83.2%	88.3%	93.8%	93.8%	99.0%	100.0%

表7.緑膿菌の多剤耐性菌の分離頻度

2剤耐性菌の分離頻度

分離菌の単純集計	
薬剤の組み合わせ	株数
カルバペネム系+アミノグリコシド系	0
アミノグリコシド系+ニューキノロン系	2
AMK+LVFX, CPFX	2
ニューキノロン系+カルバペネム系	31
LVFX, CPFX+IPM, MEPM	16
LVFX, CPFX+IPM	8
LVFX+IPM, MEPM	4
LVFX+IPM	2
LVFX+MEPM	1

2剤耐性菌の分離頻度 6.9% (33/481)

推定起炎菌の集計	
薬剤の組み合わせ	株数
カルバペネム系+アミノグリコシド系	0
アミノグリコシド系+ニューキノロン系	0
ニューキノロン系+カルバペネム系	8
LVFX, CPFX+IPM, MEPM	5
LVFX, CPFX+IPM	2
LVFX+IPM	1

2剤耐性菌の分離頻度 3.8% (8/209)

3剤耐性菌の分離頻度

分離菌の単純集計	
薬剤の組み合わせ	株数
IPM, MEPM+GM, AMK+LVFX, CPFX	1
IPM, MEPM+AMK+LVFX, CPFX	5
IPM+GM+LVFX, CPFX	2
MEPM+GM, AMK+LVFX	1

3剤耐性菌の分離頻度 1.9% (9/481)

推定起炎菌の集計	
薬剤の組み合わせ	株数
IPM, MEPM+GM, AMK+LVFX, CPFX	1
IPM, MEPM+AMK+LVFX, CPFX	4

2剤耐性菌の分離頻度 2.4% (5/209)

## 新型薬剤耐性菌の分子機構に関する研究

研究代表者 荒川 宜親（国立感染症 細菌第二部）

### 研究要旨

国内の臨床現場で分離された細菌の中で、これまでの常識では理解し難い耐性パターンを示す株について、分子、遺伝子レベルで詳細な解析を実施したところ、これまで、ペニシリンやその他のβ-ラクタム系薬に一律「感性」を示し、耐性株は存在しないとみなされて来た B 群連鎖球菌(GBS)において、ペニシリン低感受性株(PRGBS)が存在することが遺伝子レベルで確認された。それらは、ペニシリンの標的分子であるペニシリン結合蛋白(PBP)のうちの PBP2X にアミノ酸配列上、二箇所、アミノ酸残基の置換がおきていることが確認された。また、PBP の分子疫学解析の結果から、PRGBS は、特定の単一クローンではなく、複数の遺伝的背景を有する菌株を起源とすることが示唆された。一方、セフトキシム(CTX)に耐性を獲得した大腸菌が近年急増している背景を分子疫学的手法により解析した結果、血清型が O86 でシークエンスタイプが ST38 の株が CTX-M-9 を産生し、一方、血清型が O25 でシークエンスタイプが ST131 の株が CTX-M-14 を産生していることが判明した。つまり、これらの特定の遺伝的なクローンの増加が、近年の CTX 耐性大腸菌の急増の背景になっていることが確認された。さらに、中国旅行から帰国した下痢症患者より分離された CTX 耐性赤痢菌から、遺伝的に系統の異なる CTX-M-15 と CTX-M-14 の二つの酵素が融合した新しいキメラ型 CTX-M-型 β-ラクタマーゼ(CTX-M-64)を新たに発見した。この新型 β-ラクタマーゼは、CTX-M-15 と CTX-M-14 の2種類の酵素の遺伝子を同時に保有する菌株において、両遺伝子の相同組み換えにより出現した可能性が示唆された。

### 研究協力者（50音順）

川村久美子 名古屋大学医学部保健学科 准教授  
木村幸司 国立感染症研究所細菌第二部主任研究官  
黒川博史 同上 協力研究員  
近田俊文 同上 第一室室長  
柴田尚宏 同上 主任研究官  
鈴木里和 同上 主任研究官  
玉井清子 (株)ミロクメディカルラボラトリー  
筒井敦子 国立感染症 細菌第二部 JANIS 担当官  
土井洋平 ビッツバーグ医療センター 准教授  
長野則之 船橋市立医療センター検査部 主任技師  
長野由紀子 国立感染症 細菌第二部 協力研究員  
柳沢英二 (株)ミロクメディカルラボラトリー  
山根一和 国立感染症 細菌第二部 主任研究官  
和知野純一 同上 研究員

### A. 研究目的

近年、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。そこで、国内の医療施設で新たに出現した、あるいは出現しつつある新型の薬剤耐性菌について、それらが獲得した新規の分子機構の解明と、その結果を応用した、それらの簡便な検査、解析法の考案や構築を行なう。

### B. 研究方法

国内の医療機関で分離された病原細菌の中で、既存の薬剤耐性機構では説明がつかない薬剤耐性パターンなどを示す菌株について、医療機関側より詳しい解析の依頼があった株等に対し、基礎細菌学的な観点から、分子、遺伝子レベルの解析手法を駆使して詳細な解析を行ない、薬剤耐性獲得のメカニズムを解明する。

(倫理的側面での配慮)

臨床分離された株の付帯情報としては、菌が分離された患者の年齢・性別、菌分離日、分離材料名、薬剤感受性試験結果などが、菌に添付されて来るが、



個人を特定できる情報は含まれない。患者の基礎疾患名、入院病名、感染症名、治療歴などの情報を用いた研究を行なう際には、患者個人が特定されることは無いが、念のため、研究計画についてあらかじめ、国立感染症研究所の「ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会」の審査と承認を得てから実施した。

## C. 研究結果

### 1. ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の発見と解析

(木村幸司 他)

1995 年以降、国内の臨床現場で分離された B 群連鎖球菌の中で、ペニシリンや一部の経口セファロスポリンに「S」以外の判定結果が得られた 14 株について解析を行なった。その結果、それらの株は、ペニシリン結合蛋白 2X (PBP2X) の 405 番のアミノ酸残基が V から A、または/かつ 557 番目のアミノ酸残基が Q から E に置換している事が明らかとなった。蛍光ペニシリンを用いた解析から、PRGBS では PBP2X への結合量が低下していることが明らかとなったが、PBP2X を特異的に認識する抗体で PBP2X の産生量を定量したところ、PBP2X の量も減少している可能性が示唆され、これらの変化がペニシリン低感受性の関与していることが示唆された。そこで、ペニシリン感受性 GBS 株に PRGBS 株の変異型 PBP2X を導入した組み換え株は、PRGBS 株と同等の耐性レベルを示したことから、405 番または/かつ 557 番目のアミノ酸残基の置換がペニシリンへの低感受性に関与していることが確認された。(図表は、参考文献 4 を参照)

### 2. ペニシリン低感受性 GBS の分離頻度と分子疫学

(長野則之 他)

国内の臨床現場で分離された GBS 442 株について解析を行なったところ、10 株(2.3%)において、ペニシリンの MIC 値が、 $>0.12 \mu\text{g/ml}$  と判定され、PRGBS であることが示唆された。そこで、PRGBS とペニシリン感受性 GBS についてそれらの PBP のアミノ酸配列を比較し系統樹解析を行なったところ、PRGBS は少なくとも 4 つの異なる遺伝的背景を有する菌株に別れることが確認された。(図表は、参考文献 3 を参照)

### 3. CTX/CTRX 耐性大腸菌の分子疫学的解析

(鈴木里和 他)

近年、我が国の臨床現場で分離される大腸菌の中

に、第三世代セファロスポリンであるセフトキシム(CTX)やセフトリアキソン(CTRX)に耐性を獲得した株が急増している。そこで、これらの株を解析したところ、CTX-M-9 型や CTX-M-14 型の  $\beta$ -ラクタマーゼを産生する株の増加が、その現象の背景になっていることが明かとなった。次に、これらの株について、血清型別と MLST 解析を行なったところ、CTX-M-9 型  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株は、血清型 O86 に属するものが多く、シークエンスタイプ(ST)は、ST38 が多かった。一方、CTX-M-14 型  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株は、血清型 O25 に属するものが多く、シークエンスタイプは、ST131 に属するものが多かった。したがって、近年の CTX/CTRX 耐性大腸菌の急増は、従来の CTX-M-2 型  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株の増加ではなく、CTX-M-9 あるいは CTX-M-14 型  $\beta$ -ラクタマーゼを産生する O86 あるいは O25 型の血清型を示す大腸菌のクローナルな増加が原因であることが強く示唆された。

(図表は、参考文献 2 を参照)

### 4. CTX/CAZ 耐性の赤痢菌から新たに発見された CTX-M-64 型 $\beta$ -ラクタマーゼ

(長野 由紀子 他)

激しい下痢などの腸管感染症症状を呈した、中国から帰国した旅行者から、セフトキシム耐性赤痢菌(*Shigella sonnei*)が分離された。CTX-M-型  $\beta$ -ラクタマーゼの産生を疑い、CTX-M-1 グループ、CTX-M-2 グループ、CTX-M-9 グループなどの  $\beta$ -ラクタマーゼの遺伝子を検出する PCR 解析を行なったところ、何れも陰性であった。しかし、薬剤耐性のパターンから判断すると、CTX-M-型  $\beta$ -ラクタマーゼを産生していることが強く疑われたため、耐性に関与する遺伝子のクローニング解析を試みた結果、この株は、遺伝的に異なる CTX-M-1 グループと CTX-M-9 グループの二種類の  $\beta$ -ラクタマーゼが融合(ハイブリッド)した、キメラ構造の酵素を産生する株であることが明らかとなった。そこで、我々はこのキメラ酵素を CTX-M-64 と新しく命名した。

(図表は、参考文献 1 を参照)

## D. 考察

B 群連鎖球菌(GBS)においては、これまでは、ペニシリンに対して一律「感受性」を示すと考えられ、「耐性株」の存在は、知られていなかった。しかし、今回の我々の研究により、既に 1995 年頃からペニシリンに低感受性を獲得した GBS が医療現場で出

現していたことが明らかとなり、それらは、PBP2Xに共通のアミノ酸置換を有しており、それらの置換が、第一義的に、ペニシリン低感受性に関与していることが確認された。現時点で、GBSに占めるPRGBSの分離頻度は、2.3%程度と推定されるが、今のところ、国内ではPRGBSは血液や髄液からは検出されておらず、多くは喀痰等からである。しかし、PRGBSに対しては、オキサシリンやセフトアキシムの最小発育阻止濃度(MIC値)が上昇する傾向が見られ、特にセフトアキシムのMIC値は、 $32\mu\text{g/ml}$ 以上となる場合もある。したがって、GBSを保菌する妊婦に対するペニシリンの分娩時投与の効果の減弱とともに、特に新生児の敗血症や髄膜炎起因株としてPRGBSが分離された場合、ペニシリンのみならず、セファロスポリンの有効性が減弱する危険性もあり、PRGBSの分離動向を十分に監視する必要がある。

セフトアキシム(CTX)やセフトリアキソン(CTRX)に耐性を獲得した大腸菌が海外でも急増しており、それらは、CTX-M-1グループに属するCTX-M-15型 $\beta$ -ラクタマーゼを産生していることが多いと報告されている。しかし、我が国では、CTX-M-9グループ(CTX-M-9やCTX-M-14)に属する $\beta$ -ラクタマーゼを産生するO86やO25などの特定の血清型の大腸菌のクローナルな増加が、特徴的である。CTX-M-9やCTX-M-14に属する $\beta$ -ラクタマーゼ産生株は、これまで、アジア地域の臨床検体から多く検出される傾向が見られるが、同時にブタなどの家畜からも分離されるとの報告もあり、畜産物を介して市中にこの種の新型耐性菌がひそかに侵淫し、健康な市民の腸管に定着している大腸菌等の腸内細菌に、CTX-M-型 $\beta$ -ラクタマーゼの遺伝子を担うプラスミドが伝達することで、ヒトの腸内環境に適応した安定したO25やO86などの血清型の大腸菌が成立し、この種の酵素の遺伝子がヒトの腸内常在細菌叢に安定に保持されるようになった可能性がある。そして、そのような保菌者が病院に入院することで、CTX-M-型 $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌の保菌が顕在化してきていると考えられる。したがって、入院患者のみならず、外来患者においてもCTX-M-型 $\beta$ -ラクタマーゼ産生株の出現に注意を払う必要があると、入院時には、保菌検査が必要になっていると考えられる。

中国旅行から帰国した下痢症患者よりCTX耐性の赤痢菌が確認され、本菌株から、我々がCTX-M-64と命名した新しいCTX-M-型 $\beta$ -ラクタマーゼが

発見された。このCTX-M-64は、CTX-M-15とCTX-M-14のハイブリッド構造を示すことが確認されたが、中国でブタから分離された大腸菌の中に、CTX-M-15とCTX-M-14の両方の $\beta$ -ラクタマーゼを同時に産生する株が存在することが報告されている事実から、おそらくCTX-M-64はそのような株において、2つの遺伝子が相同組み換えをおこなうことにより新しく出現した株であることが示唆される。したがって、この点からも、海外の畜産現場における薬剤耐性菌の発生動向や分離状況の監視を強化する必要があり、また、海外から輸入される畜産品における大腸菌や肺炎桿菌、プロテウス属菌、エンテロバクター属菌、サイトロバクター属菌などの腸内細菌科の菌種における薬剤耐性菌の汚染状況の調査が必要と考えられる。

## F. 健康危険情報

ペニシリンやセファロスポリンの一部に「非感受性」、「低感受性」と判定されるB群連鎖球菌(PRGBS)が、国内では既に2.3%の比率で分離されており、新生児における敗血症や髄膜炎の起因菌となった場合、GBS侵襲性感染症の治療薬として第一選択薬とされる $\beta$ -ラクタム薬の有効性が減弱する危険性があり、今後、PRGBSに対する積極的な監視が必要となっている。

赤痢菌などの病原細菌においてCTX-M-型 $\beta$ -ラクタマーゼを産生する株が新たに出現しつつあるため、特に海外旅行などからの帰国者における検査の際の、分離菌における薬剤感受性検査の実施が重要となっている。

## G. 研究発表

1. Nagano Y, Nagano N, Wachino J, Ishikawa K, Arakawa Y. Novel chimeric  $\beta$ -lactamase CTX-M-64, a hybrid of CTX-M-15-like and CTX-M-14  $\beta$ -lactamases, found in a *Shigella sonnei* strain resistant to various oxymino-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- $\beta$ -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

#### I. その他特記すべき事項

1. 和知野純一、「臨床分離病原細菌において新たに発見された薬剤耐性の分子機構」という研究成果により、日本細菌学会より平成 21 年「黒屋奨学賞」を受賞
2. 長野則之、他、参考文献 3 が、米国微生物学会の発行する会誌「Microbe(以前の ASM News)」の 2009 年 1 月号の、"Journal Highlight"で紹介された。
3. 木村幸司、「ペニシリン低感受性を獲得した B 群連鎖球菌に関する最初の分子機構解析」という研究成果により、日本化学療法学会より平成 20 年度「上田賞」を受賞。



## バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）に関する研究

研究分担者 池 康嘉（群馬大学大学院医学系研究科 細菌学、  
同薬剤耐性菌実験施設）

### 研究要旨

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。

### 研究協力者

谷本弘一	薬剤耐性菌実験施設	准教授
藤本修平	細菌学	講師
富田治芳	細菌学	講師
井上貴子	細菌学	助教
野村隆浩	細菌学	技術専門職員
鄭 波	北京大学臨床薬理研究所	准教授

### A. 研究目的

薬剤耐性の基礎的研究の分担研究においては、腸球菌、特にバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）の薬剤耐性機構、接合伝達性プラスミドの伝達機構、および疫学的研究を行っている。医療現場（病院）でのバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）の急速な伝播、拡散の要因としてバンコマイシンを含むグリコペプチド系抗生物質の使用量の増加、腸球菌の持つ効率的な遺伝子伝達機構（高頻度接合伝達性プラスミド、接合伝達性トランスポゾン）の存在などがある。一方で家畜などの環境中、特に養鶏における成長促進目的での抗生剤の使用により環境中にVREが増加し、環境（鶏肉）からヒトへVREが伝播する可能性が指摘されている。これまでに環境中（食肉）とヒトから分離されたVREの関連性を示唆する報告

があるが細菌学的に同一性を証明した報告は少ない。今回、国外（台湾）の同じ地域のヒト（患者）と養鶏場、鶏から分離したVRE株の関連性を調べた。

### B. 研究方法

用いた野性株は台湾分離菌である。患者由来VRE 40株、家畜（ニワトリ、豚、家畜環境）由来VRE 30株、患者由来VREのうち23株、*E. faecalis* 17株、*E. faecium* 家畜由来VRE 30株すべて*E. faecalis*。実験株；*E. faecalis* FA2-2(Rif<sup>r</sup>, Fus<sup>r</sup>)、JH2SS (Sm<sup>r</sup>, Spc<sup>r</sup>) 合成フェロモン；cAD1, cPD1, cCF10, cAM373, cOB1, 接合伝達実験；プラスミドDNAの解析等は既報に従った。

### C. 研究結果・考察

- 1) VREの遺伝型と形質：患者分離*E. faecalis* VRE 22/23株、*E. faecium* VRE 6/17株の遺伝型は*vanA*で、グリコペプチドの耐性の形質は、バンコマイシン高度、テイコプラニン低度耐性のVanBであった。家畜由来*E. faecalis* VRE 30株はすべて*vanA*型で、VanB形質であった。
- 2) Van耐性の接合伝達性：患者分離*E. faecalis* VRE 23株中16株と家畜由来*E. faecalis* VRE 30

株中 20 株の Van 耐性が受容菌 *E. faecalis* FA2-2 に高頻度 (10<sup>-3</sup>~10<sup>-5</sup>/cell) の頻度で接合伝達した。

- 3) 接合伝達性プラスミドのフェロモン反応性: 患者由来 *E. faecalis* VRE 23 株の中で Van 耐性が接合伝達した 16 株の接合伝達性プラスミドのフェロモン反応性を調べた結果、11 株のプラスミドは cAD1 に反応する pAD1、5 株のプラスミドは cOB1 に反応する pOB1 型であった。家畜由来 *E. faecalis* VRE 30 株のうち Van 耐性が接合伝達された 20 株のプラスミドのうち、13 株のプラスミドは pAD1、3 株のプラスミドは pOB1 型、4 株のプラスミドはその他のフェロモンに反応した。
- 4) 患者と家畜由来 VRE の Van 型プラスミド解析: 家畜とヒトから分離された接合伝達性プラスミドの *E. coli* 断片のアガロースゲル電気泳動の解析から、家畜とヒトで同一のプラスミドが 2 組存在した。

#### D. 結論

今回の研究は、家畜細菌の人腸管への定着の可能性を示唆するものである。特に、家畜細菌の薬剤耐性が腸管内で人の細菌に接合伝達で伝達されることにより、家畜の薬剤耐性が人の細胞菌に伝播することを示した。

#### E. 健康危険情報

腸球菌は日和見感染菌で、健康者に感染症を起こすことは無い。

#### F. 研究発表

1. Zheng B, Tomita H, Inoue T, Ike Y. Isolation of VanB-Type *Enterococcus faecalis* Strains from Nosocomial Infections: First Report of the Isolation and Identification of the Pheromone-Responsive Plasmids pMG2200, Encoding VanB-Type Vancomycin Resistance and a Bac41-Type Bacteriocin, and pMG2201, Encoding Erythromycin Resistance and Cytolysin (Hly/Bac). *Antimicrob Agents Chemother.* 53(2):735-747, 2009.
2. Tomita H, Ike Y. Genetic Analysis of the *Enterococcus* Vancomycin-Resistance Conjugative Plasmid pHT $\beta$ : Identification of the Region Involved in Cell Aggregation and *traB*, a Key Regulator Gene for Plasmid Transfer and Cell Aggregation. *J Bacteriol.* 190(23):7739-7753, 2008.

3. Tanimoto K, Ike Y. Complete nucleotide sequencing and analysis of the 65-kb highly conjugative *Enterococcus faecium* plasmid pMG1: identification of the transfer-related region and the minimum region required for replication. *FEMS Microbiol Lett.* 288:186-195, 2008.
  4. Tanimoto K, Tomita H, Fujimoto S, Okuzumi K, Ike Y. Fluoroquinolone enhances the mutation frequency for meropenem-selected carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, but use of the high-potency drug doripenem inhibits mutant formation. *Antimicrob Agents Chemother.* 52(10): 3795-3800, 2008.
  5. Tomita H, Kamei E, Ike Y. Cloning and genetic analyses of the bacteriocin 41 determinant encoded on the *Enterococcus faecalis* pheromone-responsive conjugative plasmid pY114: a novel bacteriocin complemented by two extracellular components (lysin and activator). *J Bacteriol.* 190(6):2075-85, 2008.
- G. 知的所有権の取得状況  
なし

台湾の患者(ヒト)分離VanA型VRE

菌種	Van型	分離菌数(%)
<i>E. faecalis</i>	VanA (Van Te1)	1/49 (2.0%)
	VanB (Van)	2/49 (4.1%)
<i>E. faecium</i>	VanA (Van Te1)	11/40 (27.5%)
	VanB (Van)	6/40 (15.0%)

台湾の患者・家畜環境由来VanA型VRE

菌種	Van型	分離菌数(%)
<i>E. faecalis</i>	VanB (Van)	30/30 (100%)