

を用いて泳動した。サザンハイブリダイゼーションには DIG ラベル&ディテクションシステムを用いた。

結晶化: 結晶化の初期条件は市販のスクリーニングキットを用いて検討した。蛋白濃度は 15mg/ml とした。最終的にリザーバー溶液として、(A) 0.2M ammonium sulfate, 0.1 M sodium acetate, pH5.3, 28% PEG 2000 MME, および(B) 1M lithium chloride, 0.1M MES, pH5.8, 26% PEG 6000 を用いることで X 線結晶構造解析に至適な結晶を得ることができた。

回折データ測定: Photon Factory にて行った。

C. 結果

S. marcescens 10mdr-148 株はカルバペネム高度耐性株である。本菌株は SMA テストおよび Etest IP/IPI の結果から、メタロ-β-ラクタマーゼ(以下 MBL) 産生株と判定された(図1)。しかし、PCR により既知の MBL 遺伝子は検出されなかった。これらの結果から、未知の MBL 遺伝子の存在が疑われた。そこで、*S. marcescens* 10mdr-148 株の DNA から MBL 遺伝子をクローニングした。得られた DNA 断片の解析により、新規の MBL 遺伝子の存在を明らかにした。本 MBL 遺伝子は 280 アミノ酸をコードしていた。この MBL を SMB-1 と命名した。SMB-1 は構成アミノ酸の種類から、*Stenotrophomonas maltophilia* が持つ MBL である L1 などに近縁で、サブクラス B3 に属する MBL であることがわかった(図2)。SMB-1 遺伝子の周辺には DNA 転位因子である *ISCR1* やクラス1インテグロンが存在した(図3)。PFGE およびサザンハイブリダイゼーションの結果から、SMB-1 遺伝子は *S. marcescens* 10mdr-148 株のゲノム DNA 上に存在することがわかった(図4)。

SMB-1 遺伝子を大腸菌に導入したところ、ペニシリン、セファロスポリン、カルバペネムなど様々なβ-ラクタム薬の最小発育阻止濃度(MIC)が上昇した(表1)。しかし、アズトレオナムの MIC は変化しなかった(表1)。大腸菌を用いた蛋白大量発現系を利用して SMB-1 酵素を大量発現させ、クロマト

グラフィーシステムを用いて精製を行った。精製した SMB-1 の N 末端は QDRDW であった。したがって、成熟型 SMB-1 は 262 アミノ酸で構成され、分子量はおよそ 27.7kDa と見積もられた。等電点(pI)は 7.4 であった。溶液中では単量体状態で存在した。

精製 SMB-1 を用いて、各種β-ラクタム薬に対する加水分解活性を測定した。測定結果を表2に示す。SMB-1 はβ-ラクタム薬の中でもカルバペネム系薬を効率よく分解することがあきらとなった。逆に、セフェピムに対する分解活性は低かった。SMB-1 の酵素活性は EDTA やジピコリン酸など金属キレート剤の存在下で減弱した。

さいごに、SMB-1 酵素の結晶作製を試みたところ、図5に示すように2つの結晶を得ることができた。いずれも 1.6 Å の分解能で回折データを回収することができた。

D. 考察

SMB-1 はサブクラス B3 に属する MBL である。NDM-1 や IMP-1 など、これまでに病原性グラム陰性菌が外来性に獲得した MBL は全てサブクラス B1 に属するものである。外来性に獲得したサブクラス B3 MBL が発見されたのはこれが初めてである。SMB-1 遺伝子は *S. marcescens* 10mdr-148 株のゲノム DNA 上に存在した。SMB-1 遺伝子の前後には DNA 転位因子である *ISCR1* が存在した。これまでも数多くの薬剤耐性遺伝子の近傍に *ISCR1* が発見されており、薬剤耐性遺伝子の伝播・拡散に *ISCR1* が深く関わっている可能性が示唆されている。したがって、今回発見された SMB-1 遺伝子も *ISCR1* の働きにより、何らかの細菌から *S. marcescens* に取り込まれたものと推測された。

酵素学的検討から SMB-1 は他の MBL 同様、ペニシリン、セファロスポリン、カルバペネムなど様々なβ-ラクタム薬を分解することがあきらかとなった。特に、カルバペネムに対する分解活性の高さは SMB-1 が有する特筆すべき酵素学的性質の一つといえる。

さらに本研究では、SMB-1 の X 線結晶構造解

析を行うのに必要な蛋白結晶を作製し、1.6 Å分解能を持つ回折データを得ることができた。今後、SMB-1 の3次元構造を決定し、得られた構造情報をSMB-1の阻害剤の開発へと役立てたいと考えている。

E. 結論

臨床分離 *S. marcescens* から新規 MBL (SMB-1) を発見し、解析を行った。今後、SMB-1 の3次元構造をあきらかにし、得られた構造情報を MBL の阻害剤の開発に応用したいと考えている。

F. 研究発表

1. 論文(雑誌)発表

1) Wachino J, Yamaguchi Y, Mori S, Yamagata Y, **Arakawa Y**, Shibayama K.

Crystallization and preliminary X-ray analysis of the subclass B3 metallo- β -lactamase SMB-1 that confers carbapenem resistance.

Acta Crystallographica Section F, Structural Biology and Crystallization Communications, 2012, in press.

2) Wachino J, Yoshida H, Yamane K, Suzuki S, Matsui M, Yamagishi T, Tsutsui A, Konda T, Shibayama K, **Arakawa Y**.

SMB-1, a novel subclass B3 metallo- β -lactamase,

associated with ISCR1 and a class 1 integron, from a carbapenem-resistant *Serratia marcescens* clinical isolate.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2011, 55(11): 5143-9.

3) Wachino J, Yamane K, **Arakawa Y**.

Practical disk-based method for detection of *Escherichia coli* clinical isolates producing the fluoroquinolone-modifying enzyme AAC(6')Ib-cr.

Journal of Clinical Microbiology. 2011, 49(6): 2378-9.

2. 学会発表:

1) 和知野純一, 吉田弘之, 山根一和, 松井真理, 鈴木里和, 山岸拓也, 筒井敦子, 近田俊文, 柴山恵吾, **荒川宜親**

新型メタロ- β -ラクタマーゼ SMB-1 の機能解析. 第40回薬剤耐性菌研究会, 平成23年12月, 渋川

G. 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

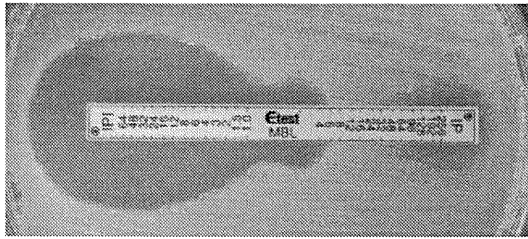


図1 Etest

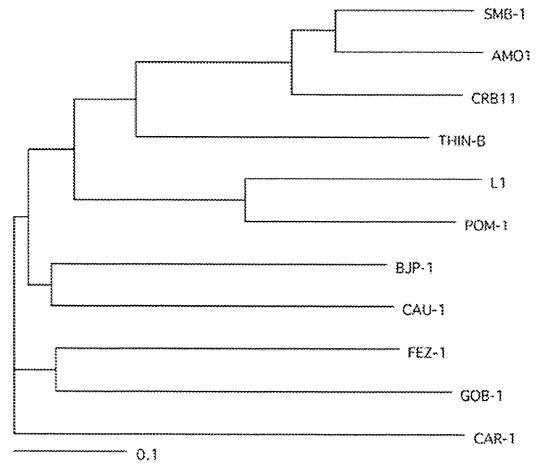


図2 subclass B3 MBL の系統樹

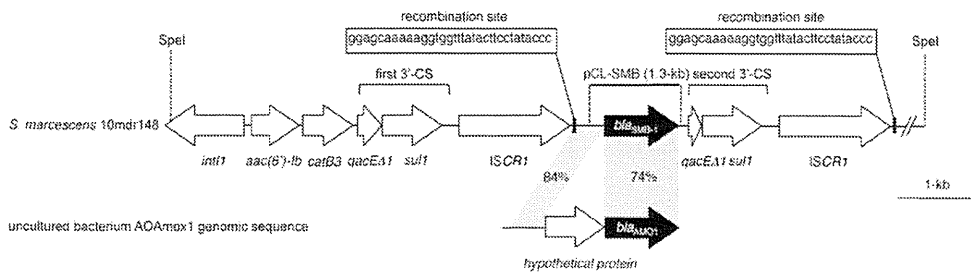


図3 SMB-1 遺伝子の周辺構造

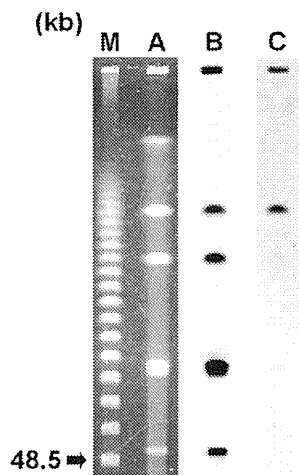


図4 PFGE およびサザンハイブリダイゼーション

レーン M. DNA サイズマーカー
 レーン A. I-CeuI 消化 DNA
 レーン B. 16S rDNA プローブを用いたシグナル検出
 レーン C. SMB-1 遺伝子プローブを用いたシグナル検出

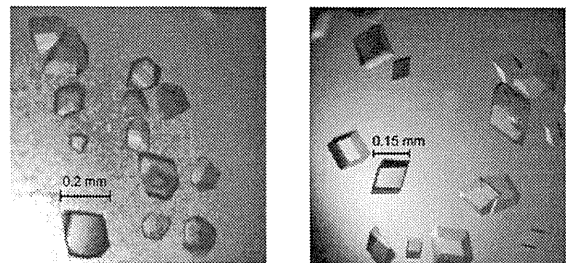


図5 SMB-1 の結晶

左, 条件 A にて得られた結晶
 右, 条件 B にて得られた結晶

表 1. 薬剤感受性試験

Antimicrobial agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	<i>S. marcescens</i>	<i>E. coli</i> KAM32	<i>E. coli</i> KAM32
	10mdr148	(pCL-SMB)	(pCL1920)
Ampicillin	> 256	> 256	2
Piperacillin	> 256	> 256	0.25
Cephalothin	> 256	256	8
Cephaloridine	> 256	64	2
Cefazolin	>256	256	1
Cefuroxime	>256	>256	0.25
Cefotaxime	> 256	16	≤ 0.06
Ceftazidime	256	256	0.25
Cefepime	> 256	0.5	≤ 0.06
Cefoxitin	> 256	> 256	2
Cefmetazole	> 256	256	0.5
Flomoxef	> 256	64	≤ 0.06
Aztreonam	>256	0.13	0.13
Imipenem	>32	8	0.25
Meropenem	>32	16	0.03
Panipenem	>32	32	0.5
Biapenem	>32	16	0.25
Amikacin	12	ND ^a	ND
Gentamicin	1.5	ND	ND
Ciprofloxacin	1	ND	ND
Moxifloxacin	0.5	ND	ND
Tigecycline	1	ND	ND

^a ND, not determined.

表 2. SMB-1 の酵素学的速度論解析

Substrate and Chelating agent	K_m (μM)	k_{cat} (s^{-1})	k_{cat}/K_m ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	Relative k_{cat}/K_m ^d	IC ₅₀ (μM)
Ampicillin	102	247	2.4×10^6	100	
Piperacillin	380	68	1.8×10^5	7.5	
Cephalothin	15	28	1.9×10^6	79	
Cefuroxime	22	30	1.4×10^6	58	
Cefotaxime	35	31	8.9×10^5	37	
Ceftazidime	57	4.4	7.7×10^4	3.2	
Cefepime	747	2.7	3.6×10^3	0.15	
Cefoxitin	26	39	1.5×10^6	63	
Aztreonam	NH ^b	ND ^c	ND	ND	
Imipenem	133	518	3.9×10^6	163	
Meropenem	144	604	4.2×10^6	175	
Dipicolinic acid					2.2
1,10- <i>o</i> -Phenanthroline					156
EDTA					14

^a Standard deviations of each parameter were below 10%.

^b NH, no measurable hydrolysis detected with 1 μM of enzyme.

^c ND, not determined.

^d Relative k_{cat}/K_m value was expressed compared to that of ampicillin, that was assigned as 100.

ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の遺伝的背景に関する研究と院内多発事例の細菌学的解析

研究分担者 荒川宜親 名古屋大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

B 群連鎖球菌(Group B streptococcus, GBS, *Streptococcus agalactiae*)は、新生児敗血症、髄膜炎の筆頭原因菌であり、また、糖尿病患者、高齢者に敗血症、髄膜炎を引き起こすことが知られている。臨床分離される GBS は、すべてペニシリン系薬を含むベータラクタム系薬に感性であるとされ、GBS 感染症の予防、治療の第一選択薬はペニシリン系薬であるが、我々は、ペニシリン結合蛋白(Penicillin-binding protein, PBP) 2X に変異を獲得し、ペニシリン系薬、一部のセファロスポリン系薬に感性でなくなったペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌(Group B streptococci with reduced penicillin susceptibility, PRGBS)の存在を世界で初めて報告した。本年度は、日本で分離された PRGBS 28 株を対照に Multilocus sequence typing(MLST)解析を行い、日本の PRGBS 株の遺伝的背景を明らかにした。また、一つの医療機関で PRGBS 疑い株が多発した事例があったため、PRGBS 疑い株を細菌学的に詳細に解析した。

研究協力者 木村 幸司
名古屋大学大学院医学系研究科 助教
長野 則之
船橋市立医療センター
長野 由起子
国立感染症研究所細菌第二部
A. 研究目的
B 群連鎖球菌 (Group B streptococcus, GBS, *Streptococcus*

agalactiae)は、新生児敗血症、髄膜炎の筆頭原因菌であり、また、糖尿病患者、高齢者に敗血症、髄膜炎を引き起こすことが知られている。臨床分離される GBS は、すべてペニシリン系薬を含むベータラクタム系薬に感性であるとされ、GBS 感染症の予防、治療の第一選択薬はペニシリン系薬であるが、我々は、ペニシリン結合蛋白

(Penicillin-binding protein, PBP) 2X に変異を獲得し、ペニシリン系薬、一部のセファロスポリン系薬に感性でなくなったペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌(Group B streptococci with reduced penicillin susceptibility, PRGBS)の存在を世界で初めて報告した。現在のところ、PRGBS が、どのような遺伝的背景をもった GBS 群であるのか、また、どの程度の病原性をもっているのかは不明である。そこで、日本で分離された PRGBS の遺伝的背景を明らかにする目的で、日本で分離された PRGBS 28 株を対照に Multilocus sequence typing(MLST)解析を行い、日本の PRGBS 株の遺伝的背景を明らかにした。また、PRGBS が、院内感染の起因菌になりうるかも不明であったため、一つの医療機関で PRGBS 疑い株が多発した事例から分離された PRGBS 疑い株を細菌学的に詳細に解析した。

B. 材料ならびに方法

1995-2008 に国内で分離された PRGBS で、PBP2X の特定の変異が確認された 28 株について 7 つの遺伝子を指標とした MLST を行った。また、eBURST 解析を行った。

数人の患者から分離された 10 株の多剤耐性化した PRGBS 疑い株について、各薬剤耐性機構の解析、Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)解析、MLST 解析を行った。

C. 結果

28 株の内訳は、ST458 (n=11, 39%), ST1 (n=7, 25%), ST23 (n=4, 14%), ST297 (n=3, 11%), ST4 (n=1, 4%), ST358 (n=1, 4%), ST464 (n=1, 4%)であった(表 1)。eBURST 解析により、ST458 と ST1 とは、一つのみのアレルの違いで、同じ clonal complex(CC)に属することが明らかとなった。

10 株の PRGBS 疑い株は、すべて PRGBS に特徴的な V405A 変異を PBP2X に有していた。また、全株、マクロライド耐性遺伝子、erm(B)を有し、GyrA 及び/または GyrB, ParC の Quinolone resistance-determining region (QRDR)に変異を有していた。PFGE 解析では、10 株は遺伝的な関連性が認められ、MLST 解析では、CC1 に属する ST458 であった。

D. 考察

国内の PRGBS は、ST458 と ST1 を含む CC から多く出現しているが、その他遺伝的に関連性の薄い菌株群からも多源的に出現していることが示唆された。

類似の遺伝的背景をもつ多剤耐性化した PRGBS が、院内で多発したことから、PRGBS は MRSA や多剤耐性緑膿菌とおなじように医療施設内で伝播し、院内感染を引き起す能力を有することが明らかとなり、感染制御上も重要な耐性菌と考えられる。

E. 結論

PRGBS では、ST458 がもっとも多かったが、ST458 に属し多剤耐性化した PRGBS が院内で多発した事例があることから、PRGBS、特に ST458 に属する PRGBS について、さらなる

研究が必要である。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

英文原著論文

1. N. Nagano, Y. Nagano, M. Toyama, K. Kimura, T. Tamura, K. Shibayama, Y. Arakawa (2011) “Nosocomial spread of multidrug-resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility belonging to clonal complex 1” **J. Antimicrob. Chemother.** in press
2. K. Kimura, N. Nagano, Y. Nagano, J. Wachino, S. Suzuki, K. Shibayama, Y. Arakawa (2011) “Predominance of sequence type 1 group with serotype VI among group B streptococci with reduced penicillin susceptibility identified in Japan” **J. Antimicrob. Chemother.** 66: pp2460-4.

国内学会発表

1. 外山雅美、長野則之、長野由紀子、田村孝志、木村幸司、荒川宜親(2012) “同一施設で検出された多剤耐性・ペニシリン低感受性B群レンサ球菌の分子学的特性” 第23回日本臨床微生物学会総会 横浜 1月21日22日
2. 大野智子、三嶋廣繁、澤村治樹、小坂功、山田敦子、末松寛之、山岸由佳、長野則之、外山雅美、長野由紀子、木村幸司、荒川宜親(2012)

“愛知医科大学病院で検出されたペニシリン低感受性B群連鎖球菌の分子学的解析”

第23回日本臨床微生物学会総会 横浜 1月21日22日

3. 岩田あや、内田佳子、仁紙宏之、木村幸司、荒川宜親(2011)

“Ultra late onset GBS感染症の2例”

第43回日本小児感染症学会総会 岡山 10月29日30日

4. 長野則之、長野由紀子、木村幸司、荒川宜親(2011)

“B群レンサ球菌の病原性クローン(ST-17)におけるペニシリン低感受性株出現の可能性”

第59回日本化学療法学会総会 札幌 6月23-25日 P-C43

5. 長野則之、長野由紀子、外山雅美、田村孝志、木村幸司、荒川宜親(2011)

“同一施設で検出された多剤耐性・ペニシリン低感受性B群レンサ球菌の分子学的解析”

第59回日本化学療法学会総会 札幌 6月23-25日 P-C44

研究会等発表

1. 木村幸司、長野則之、長野由紀子、荒川宜親(2011)

“これまでのペニシリン低感受性B群連鎖球菌(PRGBS)の研究”

第40回薬剤耐性菌研究会(口頭発表) 群馬 12月1日2日

2. 長野則之、長野由紀子、外山雅美、木村幸司、田村孝志、柴山恵吾、荒川宜親(2011)

“Clonal complex 1のST-458に属する多剤耐性・ペニシリン低感受性B群レンサ球

菌の院内伝播”

第40回薬剤耐性菌研究会（口頭発表） 群馬 12月1日2日

3. 木村幸司、長野則之、長野由紀子、柴山恵吾、荒川宜親(2011)

“ペニシリン低感受性B群連鎖球菌 (PRGB S) の遺伝学的背景に関する解析”

第20回Lancefieldレンサ球菌研究会、第43回レンサ球菌感染症研究会合同開催（口頭発表） 名古屋 6. 17-18.

4. 長野由紀子、長野則之、木村幸司、柴山恵吾、荒川宜親(2011)

“B群レンサ球菌の病原性クローン (ST-17) におけるペニシリン低感受性株出現の可能性”

第20回Lancefieldレンサ球菌研究会、第43回レンサ球菌感染症研究会合同開催（口頭発表） 名古屋 6. 17-18.

5. 外山雅美、長野則之、長野由紀子、田村孝志、木村幸司、柴山恵吾、荒川宜親(2011)

“同一施設で検出された多剤耐性・ペニシリン低感受性B群レンサ球菌の分子学的解析”

第20回Lancefieldレンサ球菌研究会、第43回レンサ球菌感染症研究会合同開催（口頭発表） 名古屋 6. 17-18.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表 1 PRGBS の Sequence types とその数

Sequence type (ST)	ST profile	Allele profile (<i>adhP</i> , <i>pheS</i> , <i>atr</i> , <i>glnA</i> , <i>sdhA</i> , <i>glcK</i> , <i>tkl</i>)	PRGBS の数 (%)
ST1	ST1	(1, 1, 2, 1, 1, 2, 2)	7 (25%)
ST458*	One allelic variant of ST1	(1, 1, 2, 1, 1, 2, 3)	11 (39%)
ST297*	One allelic variant of ST1	(1, 1, 2, 2, 1, 2, 2)	3 (11%)
ST4*	Three allelic variant of ST1	(1, 1, 4, 1, 1, 3, 4)	1 (4%)
ST358*	Three allelic variant of ST1	(1, 1, 4, 1, 3, 3, 2)	1 (4%)
ST23	ST23	(5, 4, 6, 3, 2, 1, 3)	4 (14%)
ST464	Three allelic variant of ST23	(5, 4, 4, 3, 2, 3, 1)	1 (4%)
			Total: 28(100%)

*, “ST1 group” に属する株。ST1 group は、ST1 から 3 allelic profile の違いまでとした。

日本国内の医療機関で分離された *Acinetobacter baumannii* のタイピングと 流行株の簡易検出法構築に向けた検討

研究分担者 荒川 宜親 名古屋大学大学院医学系研究科

研究要旨

アシネトバクター属、特に *Acinetobacter baumannii* による感染症の増加が世界中で進んでいる。中でも European clone II の系統株は、世界流行株とされる。本研究では、わが国で分離された *A. baumannii* の Multilocus Sequence Typing (MLST) と流行株の簡易検出方法開発を目指した検討を行った。

2000年から2010年に日本国内の医療機関で分離されたアシネトバクター属で、重複を除いた77株のうち、遺伝子学的手法で *A. baumannii* と菌種同定された33株のMLSTをBartualらの手法で行った。15株が世界流行株とされる clonal complex 92 (CC92) に属し、他の18株のうち17株は新規 sequence type (ST) であった。2000年から2009年に分離された22株は、Pasteur研究所の手法でもMLSTを行ったところ、Bartualらの手法でCC92に属した8株は、全てST2に分類された。その他の株のうち12株はいずれの手法でも singleton であり、両手法の分類結果に大きな相違はなかった。

*bla*_{OXA-51-like} は、*A. baumannii* のみで検出され、他の種では検出されなかった。その塩基配列は、MLST結果と高い相関があり、CC92/ST2が有した *bla*_{OXA-66}、*bla*_{OXA-82}、*bla*_{OXA-83} と non-CC92/non-ST2の有した遺伝子には nt107 に一塩基の違いがあった。当該塩基によるCC92を簡易検出法を構築し、その有用性を検討中である。

研究協力者

松井 真理(国立感染症研究所 細菌第二部)
柴山 恵吾(同上)
鈴木 里和(同上)
和知野 純一(同上)

A. 研究目的

アシネトバクター属は、日和見感染症の原因菌であり、特に *Acinetobacter baumannii* による感染症の増加とその多剤耐性化が急速に進んでいる。*A. baumannii* のタイピング手法で最も広く用いられる Multilocus Sequence Typing (MLST) には、Bartualらの手法と Pasteur研究所の2種類の手法がある。*A. baumannii* の中でも、European clone II (EU clone II) と呼ばれる特

定の遺伝子型の株が世界流行株とされている。EU clone II は、Bartualらの手法では、clonal complex 92 (CC92) に、Pasteur研究所の手法では sequence type 2 (ST2) におおむね相当する。しかしながら、同一菌株で両MLSTデータを比較した報告は少なく、2つのMLST解析手法の結果の関連性はあまり明らかではない。

本研究では、わが国で分離されたアシネトバクター属の分子疫学的特徴を明らかにする目的で、遺伝子学的手法で *A. baumannii* と同定された菌株のMLSTを2つの手法で行い、結果を比較した。さらに、世界流行株 (CC92/ST2) の簡易識別方法開発を目指した検討を行った。

B. 研究方法

菌株:2000年から2010年にかけてわが国の21都府県の医療機関で分離されたアシネトバクター属157株。

菌種の同定:既報に従い16S-23S rRNA intergenic regionの制限酵素切断パターン(MboI及びAluI)及び16S rRNA遺伝子の制限酵素切断パターン(MboI)により決定した。各菌種のバンドパターンは、対照株(*A. baumannii*; ATCC19606、*A. calcoaceticus*; ATCC23055、*A. pittii* ; ATCC19004、*A. nosocomialis* ; ATCC17903)と比較し判定した。

上記の手法で同定不能の菌種は、既法に従い、*rpoB* 遺伝子シーケンス解析により菌種を判定した。

PFGEによる代表株の選択:制限酵素 SmaI 消化DNAのPFGEにはCHEF Mapper system (BioRad)を用いた。同一医療機関で分離された株のうち、バンドパターンの違いが2バンド以内の株は同一群に属すると判定し、代表1株を選び解析を行った。

*bla*_{OXA-51-like} 遺伝子の型別:既報に従い、*bla*_{OXA-51-like} 遺伝子をPCR法にて検出し、シーケンス解析により型別を行った。

Multilocus Sequence Typing (MLST):既報に従い7種のハウスキーピング遺伝子のPCR産物をシーケンス解析した。Allelic profile 及び sequence type (ST)の決定は、*Acinetobacter baumannii* MLST databaseに従った。Bartualらの手法では、*gltA*, *gyrB*, *gdhB*, *recA*, *cpn60*, *gpi*, *rpoD*の配列をdatabase (<http://pubmlst.org/abaumannii/>)に照合した。Pasteur研究所の手法では*cpn60*, *fusA*, *gltA*, *pyrG*, *recA*, *rplB*, *rpoB*の配列をdatabase (<http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/Abaumannii.html>)に照合した。

(倫理面への配慮)

本研究は分離菌株についての解析であり、ヒト由来の臨床材料を使用しない。また、菌が分離された患者の診療情報を扱わない。したがって、倫理

上特段の問題点は発生しない。

C. 結果

アシネトバクター属157株のうち、PFGE解析結果に基づき重複株を除いた77株の菌種同定を行った。*A. baumannii*は33株、*A. pittii*が24株、*A. nosocomialis*が15株、*A. junii*1株、*A. radioresistens*1株であり、3株は明確な同定ができなかった。

*A. baumannii*33株のMultilocus Sequence Typing (MLST)結果を表1に示す。Bartualらの手法では、*で示した21の新規 sequence type (ST)を同定した。ST74、75、76、92、138、255、257に属する15株は世界中で分離報告のある clonal complex 92 (CC92)に分類された。さらに、*A. baumannii*33株のうち、2000年から2009年に分離された22株においては、Pasteur研究所の手法でMLST解析を行った(表1)。Bartualらの手法でCC92に属した8株は全て、ST2に分類された。isolate_13、14 (ST85、86)は、Bartualらの手法では1 alleleの違いで同一のCCに含まれたが、Pasteur研究所の手法では、3alleleの違いがあり同一CCには含まれなかった。その他の株は、いずれの手法においても singleton であった。

*A. baumannii*33株は全て*bla*_{OXA-51-like}遺伝子が検出され、シーケンス解析によりその遺伝子型を決定した。一方で、その他の菌種44株はいずれも*bla*_{OXA-51-like}遺伝子は検出されなかった。CC92/ST2には*bla*_{OXA-66}、*bla*_{OXA-82}、*bla*_{OXA-83}のいずれかを有する株が含まれた(図1)。データベースに登録のある*bla*_{OXA-51-like}遺伝子72種に加え、今回新たに同定した新規3種の配列を比較しMLST結果と特に高い相関が見られる領域を検索したところ、CC92/ST2に属する株の有する*bla*_{OXA-66}、*bla*_{OXA-82}、*bla*_{OXA-83}はnt107がTであるのに対し、他の遺伝子ではAであり、明らかな違いを認めた。図2には本研究で解析した株が保有した*bla*_{OXA-51-like}遺伝子配列を比較した結果を示す。現在、本塩基配列を標的にしたCC92/ST2とnon-CC92/non-ST2の分類手法を構築し、その有

用性を検討中である。

D. 考察

日本国内の医療機関で分離された *Acinetobacter baumannii* の MLST を 2 つの異なる解析手法で行った。Bartual らの手法で CC92 に属した株は、新規に同定した ST も含め全て、Pasteur 研究所の手法では ST2 に分類されたことから、Bartual らの手法を用いた方がより分類能が高いと考えられた。non-CC92 のうち isolate_13、14 を除く 12 株は、いずれの手法においても singleton であった。Bartual らの手法で新たに 21 の ST を同定したが、そのうち 9 株は Pasteur 研究所の手法でも新規の ST であり、海外ではまだ分離報告のない遺伝子型の株が我が国に存在することが明らかとなった。これら新規同定 ST も含め 2 種類の MLST 解析手法でのタイピング結果に大きな矛盾はなかった。

A. baumannii 33 株は全て *bla*_{OXA-51-like} 遺伝子が検出されたが、他種 44 株ではいずれも検出されず、海外からの文献で示唆されている結果と同様に、*bla*_{OXA-51-like} 遺伝子の有無により *A. baumannii* か否かの推定が可能であると考えられた。

*bla*_{OXA-51-like} 遺伝子型は、MLST と高い相関が認められた。CC92/ST2 が有した *bla*_{OXA-66}、*bla*_{OXA-82}、*bla*_{OXA-83} はいずれも nt107 が T、non-CC92/ST2 が有した遺伝子型では A であった。既報を検索すると、CC92/ST2 に属する株の多くは *bla*_{OXA-66} を有するとされる。また、本研究菌株には含まれなかったが、CC92/ST2 株が保有したとの報告のある *bla*_{OXA-206} は nt107 が T、non-CC92/non-ST2 株が保有していたとの報告のある *bla*_{OXA-64}、*bla*_{OXA-71}、

*bla*_{OXA-90} では nt107 が A であり、本研究で得られた結果は他菌株でも同様の結果が得られることが示唆された。この一塩基変異を利用して、流行株 (CC92/ST2) を簡易的に検出できる手法を考案し、現在その有用性を検討中である。

E. 結論

日本国内の医療機関で分離された *A. baumannii* には、世界流行株とされる CC92/ST2 と、海外で分離報告のない、新規 ST が含まれた。Bartual らの MLST 手法は、Pasteur 研究所の手法より分類能が高かったものの、2 手法の分類結果に大きな矛盾は見られなかった。

さらにアシネトバクター属の中でも *A. baumannii* が保有する *bla*_{OXA-51-like} の配列を MLST 結果と比較し、CC92/ST2 の簡易検出法の候補となりうる配列を見出し、その配列を用いた手法の有用性を検討中である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文(雑誌)発表:
なし
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

isolate No.	分離年	医療機関	OXA	Bartural et al. ; allele No. (*; novel)							Pasteur Institute ; allele No. (*; novel)								
				ST	gltA	gyrB	gdnB	recA	cpm60	gpi	rpoD	ST	cpm60	fusA	gltA	pyrG	recA	rplB	rpoB
1	2002	A	66	76*	1	12	3	2	2	10	3	2	2	2	2	2	2	2	
2	2002	B	69	ND*	34*	12	68*	41*	32*	ND	4	34	8	1	14	3	12	1	13
3	2003	C	51	82*	1	12	70*	15	4	52	45*	146*	1	4	2	2	7	1	3
4	2004	D	ND	81*	1	54*	69*	11	4	69	45*	145*	1	4	2	2	13	1	2
5	2004	D	70	87*	1	52	29	15	18	24	7	103	7	3	2	1	7	1	4
6	2004	E	66	74*	1	3	3	2	2	75*	3	2	2	2	2	2	2	2	2
7	2004	F	66	92	1	3	3	2	2	7	3	2	2	2	2	2	2	2	2
8	2004	F	69	109	10	12	4	11	4	9	5	1	1	1	1	5	1	1	
9	2004	G	66	74*	1	3	3	2	2	75*	3	2	2	2	2	2	2	2	2
10	2005	F	66	92	1	3	3	2	2	7	3	2	2	2	2	2	2	2	2
11	2005	F	Novel3	78*	13	26	67*	40*	1	22	7	149*	3	12	11	2	14	9	14
12	2008	H	65	84*	1	12	2	15	22	72	5	147*	13	5	2	1	7	1	4
13	2008	I	Novel1	85*	21	15	2	15	1	52	4	148*	3	40*	7	3	7	1	16
14	2008	I	Novel1	86*	21	15	2	15	1	78*	4	33	3	5	7	1	7	1	4
15	2008	F	82	92	1	3	3	2	2	7	3	2	2	2	2	2	2	2	2
16	2008	F	66	92	1	3	3	2	2	7	3	2	2	2	2	2	2	2	2
17	2008	F	Novel2	77*	1	1	66*	12	33*	76*	21	150*	39*	2	2	2	4	27*	4
18	2009	F	Novel1	83*	21	12	2	15	35*	77*	4	151*	27	5	7	1	7	1	4
19	2009	F	69	79*	34*	12	68*	41*	32*	7	46*	34	8	1	14	3	12	1	13
20	2009	F	NE	Novel*	33	12	40	26	32	N*	5	152*	8	1	5	3	6	2	3
21	2009	F	69	80*	34*	12	68*	41*	34*	10	4	153*	38*	1	14	3	12	1	5
22	-	J	66	75*	1	3	3	2	2	11	3	2	2	2	2	2	2	2	2
23	2006	K	82	92	1	3	3	2	2	7	3								
24	2009	A	69	135*	10	53	74	11	4	80	5								
25	2010	L	66	255*	1	3	3	2	2	55	3								
26	2010	M	66	138	1	3	3	2	2	50	3								
27	2010	N	66	92	1	3	3	2	2	7	3								
28	2010	O	82	92	1	3	3	2	2	7	3								
29	2010	P	Novel4	Novel*	1	12	6	1	4	55	45								
30	2010	Q	82	256*	10	3	4	11	1	9	5								
31	2010	R	66	257*	1	12	3	2	2	75	3								
32	2010	S	66	92	1	3	3	2	2	7	3								
33	2010	T	83	92	1	3	3	2	2	7	3								

表 1. *Acinetobacter baumannii* 33 株の $bla_{OXA-51-like}$ 型別、MLST 結果（着色欄は、CC92 及び ST2 に相当する）

Novel: 登録番号申請中

ND: Not determined / NE: Not examined

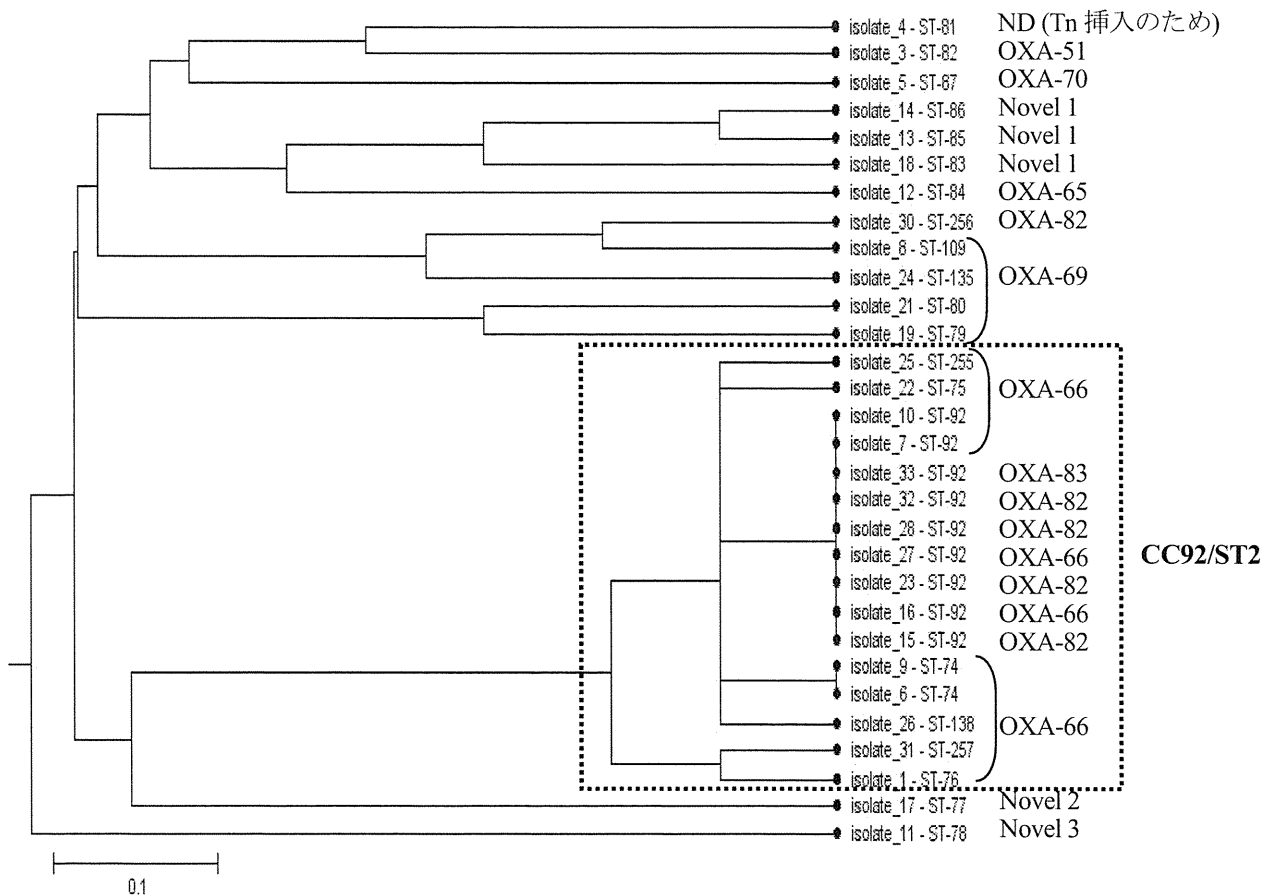


図 1. *A. baumannii* の MLST と *bla*_{OXA-51-like} の関係

OXA-66	61:TATATAGTGACTGCTAATCCAAATCACAGCGCTTCAAATCTGATGTA	AAAAGCAGAGAAA	120
OXA-82	61:TATATAGTGACTGCTAATCCAAATCACAGCGCTTCAAATCTGATGTA	AAAAGCAGAGAAA	120
OXA-83	61:TATATAGTGACTGCTAATCCAAATCACAGCGCTTCAAATCTGATGTA	AAAAGCAGAGAAA	120
OXA-51	61:TATATAGTGACTGCTAATCCAAATCACAGCGCTTCAAATCTGATGTA	AAAAGCAGAGAAA	120
OXA-65	61:TATATAGTGACTGCTAATCCAAATCACAGTGTCTTCAAATCTGATGTA	AAAAGCAGAGAAA	120
OXA-69	61:TATATAGTGACTGCTAATCCAAATCACAGTGTCTTCAAATCTGATGTA	AAAAGCAGAGAAA	120
OXA-70	61:TATATAGTGACTGCTAATCCAAATCACAGCGCTTCAAATCTGATA	AAAAGCAGAGAAA	120
OXA-71	61:TATATAGTGACTGCTAATCCAAATCACAGCGCTTCAAATCTGATGTA	AAAAGCAGAGAAA	120
Novel1	61:TATATAGTGACTGCTAATCCAAATCACAGTGTCTTCAAATCTGATGTA	AAAAGCAGAGAAA	120
Novel2	61:TATATAGTGACTGCTAATCCAAATCACAGCGCTTCAAATCTGATGTA	AAAAGCAGAGAAA	120
Novel3	61:TATATAGTGACTGCTAATCCAAATCACAGCGCTTCAAATCTGATGTA	AAAAGCAGAGAAA	120

*****.*****.*****

nt107

図 2. *bla*_{OXA-51-like} の塩基配列比較 (nt 61-120)

上段は CC92/ST2 が保有した遺伝子、下段はその他の MLST 型株が保有していた遺伝子

国立大学附属病院感染対策協議会感染サーベイランスのシステム化と
JANIS システムとの連携に関する研究

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）

研究要旨

本研究では、耐性菌による医療関連感染の制御を目的とし、手術部位感染、人工呼吸器関連肺炎、院内発症の菌血症などの医療関連感染症のサーベイランスに関する研究を行った。国公立大学病院における医療関連感染症の発生頻度、原因微生物や臨床情報の収集解析を行った。この研究の結果、質の高い疫学情報を収集するためのシステムの妥当性、実現可能性を確認でき、次の段階としての調査企画の完成という成果を得た。

研究協力者

高倉 俊二 （京都大学・臨床病態検査学講座）
長尾 美紀 （同上）

A. 研究目的

医療関連感染サーベイランスを実施し、システムの評価をすると共に、医療関連感染の疫学情報を集積する医療関連感染症に対する診療や予防策を考える上で必要な疫学的データを集積し解析する

B. 研究方法

(1)国公立大学附属病院感染対策協議会にて、多施設共同医療関連感染サーベイランスを実施する。国公立大学病院における各医療関連感染症の発生率の平均値、中央値、主要な起因微生物の分布の解析を行う。また、全国公立大学病院を対象に手術部位感染(SSI)サーベイランスを開始し手法として確立する。

(2)医療関連感染症の代表として血流感染の発生率、臨床情報、診療レベルに関する調査を開始する。国内の病院における血液培養実施状況の調査のパイロットスタディを行い、全国に展開する。国公立大学病院における血流感染の疫学調査を行う。

倫理面への配慮

研究は個人情報の収集はなく、倫理面への配慮は不要である。ただし、疫学研究倫理指針に基づいて研究計画を立て、必要に応じて大学の医の倫理委員会の承認をえて行った。

C. 研究結果

(1)国立大学附属病院感染対策協議会において

同協議会サーベイランス作業部会の主導のもと、カテーテル関連尿路感染(CAUTI)、血管カテーテル関連血流感染(CLABSI)、人工呼吸器関連肺炎のサーベイランス(VAP)を継続している大学病院のデータを収集した。いずれも過去に全国立大学病院にて実施したものと同等の感染率であり(神経内科におけるCAUTI 6.2, 血液内科におけるCLABSI 2.5, ICUにおけるVAP 3.1など)、検出微生物の分布も同様であった。感染率はほぼ横ばいのもが多かったが、開始時に既報に比べ高かった神経内科病棟におけるCAUTIは10.5から2.9に低下した。

また、2010年度は9つ、2011年度は6つの手術において手術部位感染のサーベイランスを実施し、ほぼすべての大学から結果が得られた。とくに混乱や判定に苦慮した症例相談はなかった。COLO, REC, GASTにおいてはJNISやNNISによる報告とほぼ同等のSSI発生率 (COLO 12.8%, REC 18.8%, GAST 16.0%) であり、リスクインデックスとSSI発生率と問の関連も確認できた。また、体腔鏡補助を踏まえた場合のリスクインデックスと発生率の良好な相関(GASTにてリスクインデックスの低い群から順に2.3%、5.7%、12.8%、42.9%)、手術における手術時間の延長傾向、複合手術による発生率の上昇(CARDで4.0% vs 2.2%、COLOで21.4% vs 10.0%)が確認された。SSI発生例からの検出微生物は黄色ブドウ球菌の割合が低く、腸内細菌科グラム陰性桿菌の割合が高かった。これはSSI発症例が消化器外科手術例に偏っていた影響と考えられた。以上より、本協議会のSSIサーベイランス手法は妥当であり、継続的な実施が可能になったものと考えられた。

(2) 国立大学病院における血流感染の疫学調査は29国立大学病院の参加表明を得て開始され、22施設よりデータの送付があった。病床数あたりの血液培養提出件数は、4.06 (2008年range 2.00-5.53)から5.01 (2010年 range 2.49-6.89)、血液培養の2セット率は26.0% (2008年)から53.6% (2010年)と増加傾向であった。主要6菌種の菌血症のエピソード件数は*Staphylococcus aureus* 16.7、*E. coli* 15.0、*Klebsiella* sp. 12.9、*Enterococcus* sp. 11.0、Yeast 7.7、*Pseudomonas aeruginosa* 6.7 (いずれも100,000 patient-days)の順であり、*Klebsiella* sp、*Enterococcus* sp、Yeast like fungiは2008年から2010年にかけて増加傾向であった。主要6菌種における耐性菌の割合の平均は調査期間内での変化はなかったが、施設間でのばらつきが大きいことがわかった。主要6菌種の死亡率の比較では、米国の報告に比して、グラム陰性桿菌 (*E. coli*、*Klebsiella* sp、*P. aeruginosa*) の死亡率が有意に低いことが判明した。ICU患者の予後はICU以外の患者に比べてどの菌種においても悪い傾向にあった。血液悪性腫瘍患者 (HM) においては*S. aureus*、*Enterococcus* sp.、Yeast、*E. coli*菌血症において予後不良であったが、特にHMの*Enterococcus* sp. 菌血症患者は非HM患者が20.4%の死亡率に対し43.8%の死亡率と著明に予後が悪いことが判明した。血液浄化療法中 (RRT) の患者はどの菌種においても予後が不良であった。特にYeast血症の場合、RRT患者の死亡率は63.9%と非常に予後不良であった。

D. 考察

血液培養採取数・複数セット率、および耐性菌が占める割合に病院間でバラツキが大きいことが判明した。本邦の大学病院における院内発症菌血症の基本的な疫学情報が明らかになった。血液悪性腫瘍患者では腸球菌菌血症の予後が不良であること、血液浄化療法中の患者ではどの菌種においても予後が悪いことが判明した。

E. 結論

国立大学病院の多施設共同医療関連感染サーベイランスは、CAUTI, CLABSI, VAPにSSIサーベイランスを加えた恒常的なシステムがほぼ確立した。全国および国立大学病院における血流感染の疫学情報の収集、解析ができた。

F. 健康危機情報
なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Nagao M et al. Close cooperation between infectious disease physicians and attending physicians can result in better management and outcome for patients with *Staphylococcus aureus* bacteraemia. Clin Microbiol Infect. 2010;16:1783-8
- Matsumura Y et al. Difference in Molecular Epidemiology and Clinical Features between Plasmid Mediated-AmpC Beta-lactamase (pAmpC) and Extended-spectrum Beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* Bloodstream Infection. Clin Microbiol Infect. in press

2. 学会発表

- 松島晶, 山本正樹, 松村康史, 長尾美紀 高倉俊二, 一山智. 腸球菌菌血症の予後因子に関する検討. 第22回日本臨床微生物学会総会, 2011
- Y. Matsumura, M. Yamamoto, A. Matsushima, M. Nagao, Y. Ito, S. Takakura, S. Ichiyama. Risk Factors and outcome of bacteraemia due to cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae in Japanese university hospitals. ECCMID, Milan, 2011
- Takakura S. Changing Epidemiology of Nosocomial Yeast Fungemia. IUMS 2011 Congress, Sapporo, 2011
- M. Nagao, T. Saito, G. Hotta, S. Doi, M. Yamamoto, Y. Matsumura, A. Matsushima, Y. Ito, S. Takakura, S. Ichiyama. Clinical characteristics of ocular candidiasis. When should fundoscopy be performed to rule out ocular candidiasis? ECCMID, London, 2012

H. 知的財産権の出願・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 |

薬剤耐性菌による感染症サーベイランスにおける感染率・罹患率の施設間格差に関する研究

研究分担者 河野 文夫（国立病院機構熊本医療センター 副院長）

研究要旨

医療施設は薬剤耐性菌の感染が拡大する場となっている。特に MRSA による感染症は、多くの医療機関でその対策に苦慮しているのが現状であり、治療期間の延長や転帰の悪化および医療経費の増大等、社会的な問題と発展している。そこで、国立病院機構 54 施設における薬剤耐性菌による感染状況を把握・検討を行うことにより薬剤耐性菌に感染症の中で MRSA、MDRP および PRSP による感染症における転機へ及ぼす影響について検討を行った。特に薬剤耐性菌感染症報告の中で 9 割を占めている MRSA 感染のデータ(2009 年 1 月～12 月)を基とした、多項ロジスティック解析により、MRSA 感染治療の転帰を悪化させる要因の抽出を行った。その結果、MRSA による感染症では、高齢で膀胱留置カテーテルや気管内挿管を使用した治療において、転帰が悪化する傾向が明らかとなった。また、MRSA 感染による菌血症や肺炎では、転帰が悪化する傾向を明らかにした。薬剤耐性菌のサーベイランスを実施し、現状の把握に努めると共に発生件数を監視することは、各医療機における感染症の防止措置対策の貴重な情報となり、医療のみならず公衆衛生に貢献する事が期待される。

研究協力者

平木 洋一 熊本医療センター 副薬剤科長

A. 研究目的

薬剤耐性菌の出現により感染症の治療は困難となり、治療期間の長期化など多くの問題が指摘されているのが現状である。

本研究は、これらの問題点を改善策を模索するため、薬剤耐性菌感染症の治療で、転帰を悪化させる要因の検証を目的とした。

B. 研究方法

国立病院機構 54 施設より報告された薬剤耐性菌感染患者 3,965 名（MRSA：2,426 名、MDRP：391 名および PRSP：1,148 名）のデータを基に、感染症治療の転帰を悪化させる要因について検討を行った。

単変量解析はカイ 2 乗検定を用い、有意な差が認められた項目について、2 項ロジスティック回帰分析を行った。尚、有意水準は $p = 0.05$ として解析を行うと同時に、オッズ比 (OR; Odds ratio) および 95% C.I. (C.I.; Confidence interval) を求めた。また、統計アプリケーションは SPSS Ver 18 を使用し、モデルの選択は強制投入法を使用した。

倫理面への配慮

本研究は、収集したデータから患者個人が特定できないように管理し、ヘルシンキ宣言および ICH ガイドライン (International Conference on Harmonization Good Clinical Practice guideline) を遵守した。

C. 研究結果

対象期間に報告された MRSA 感染症患者は 2,426 名で、男性は 1,633 名、女性は 793 名 (median 75.8 歳, range 0 - 102 歳) であった。また、MDRP 感染症は 391 名で、男性は 264 名であり、女性は 127 名 (median 74.0 歳, range 0 - 74 歳)、PRSP 感染症は、1,148 名で、男性は 704 名であり、女性は 444 名 (median 3 歳, range 0 - 100 歳) であった。

報告された薬剤耐性菌感染症において、MRSA 感染症患者では、肺炎が 44.8%と最も多く報告され、菌血症や手術部位感染症が 10.9%であった。MDRP 感染症患者では、肺炎が 45.3%と最も多く報告され、ついで尿路感染症が 23.3%で、PRSP 感染症では、肺炎が 55.8%と最も多く、肺炎以外の呼吸器感染症が 33.7%と高い割合を占めていた。

サーベイランスデータ 17 項目を用いた単変量解析の結果、MRSA 感染症では、年齢、膀胱留置カテーテル、IVH (Intravenous Hyperalimentation)、気管挿管、経鼻チューブ、末梢カテーテル、肺炎、消化器感染症、皮膚・軟部組織感染症、手術部位感染症および菌血症の 11 項目が転帰と有意な相関が認められた。MDRP 感染症では、性別、IVH、ドレーンカテーテル、気管挿管および尿路感染症の 5 項目が転帰と有意な相関が認められた。PRSP 感染症では、性別、年齢、膀胱留置カテーテル、SG カテーテル、IVH、ドレーンカテーテル、気管挿管、肺炎および呼吸器感染症の 9 項目が転帰と有意な相関が認められた。

単変量解析で転帰と有意に相関が認められた項目について、2 項ロジスティック回帰分析を行った。MRSA 感染症で、有意な差が認められたのは年齢、膀胱留置カテーテル、気管内挿管、肺

炎および菌血症であった。MDRP 感染症で、有意な差が認められたのは IVH および尿路感染症であった。PRSP 感染症で、有意な差が認められたのは年齢、膀胱留置カテーテル、ドレーンカテーテルおよび気管挿管であった。

D. 考察

一般的に MRSA 感染症は高齢者の感染率が高い割合を占め、PRSP では小児の感染率が高い。しかしながら、PRSP 感染症において、高齢者の方が 6.401 と高い OR を示していた。さらに、年齢の OR (95% C.I.) を比較した結果、PRSP 感染症は有意な差をもって高い OR であることが明らかになった。このことより、PRSP 感染症は MRSA 感染症と比較した場合、高齢者の方がより転帰が悪化傾向になるものと思われた。

MRSA 感染症の診断名は肺炎を初めとする呼吸器感染症が最も多く報告されていた。転帰を悪化する要因で抽出された気管挿管等の使用は、人工呼吸器関連感染症の増加が容易に予測される上に、気管挿管等を用いた治療がより呼吸器感染症のリスクを高めていることが報告されている。特に、高齢者で発症しやすい誤嚥性肺炎の 42.3% は MRSA による感染症との報告もされており、呼吸器感染症では特に注意を要すると思われた。MDRP 感染症では特に IVH では OR は 2.078 と高く、IVH 刺入部の適切な皮膚消毒や、カテーテル留置部位のドレッシングは十分に行う必要性があると思われた。JANIS の公開データによれば、MRSA 肺炎治療に用いられる抗 MRSA 抗生物質の中で、最も使用頻度が高い薬剤は VCM とされている。VCM の蛋白結合率は約 34% と他の薬剤と比較して高く、肺の VCM 濃度は血中濃度の 5-41% であり、肺上皮表面では約 1/6 と、肺への移行性は低いとの報告がされており、これらの VCM の体内動態の要因も、呼吸器感染症の転帰を悪化傾向にしている要因であると思われる。

社会的に MRSA や MDRP 感染症が重要視されているが、高齢者の PRSP 感染症の感染率は低い、転帰を悪化させる要因であることが明らかになった。また、MRSA が、起因菌となる呼吸器感染症の場合、治療に使用される VCM や ABK (Albekacin) および TEIC (Teicoplanin) などの抗 MRSA 抗生物質は、患者の腎機能や肝機能の代謝機能の低下により臨床使用が制限される薬剤である。

また、高齢になるほど代謝機能は低下するため、抗 MRSA 抗生物質の使用が一層難しい環境であると考えられた。そのため、TDM (Therapeutic Drug Monitoring) を行い、抗菌薬の適正使用を行うことで、これら患者の適正な治療が可能となると思われた。

E. 結論

我々は、国立病院機構 54 施設で薬剤耐性菌サーベイランスを実施してきたが、近年は抗菌薬使用のガイドラインや、PK/PD 理論による抗菌薬の適正使用の普及などにより、MRSA 感染症報告数に大きな変動は認められていない。これら薬剤耐性菌の感染症において、治療期間の延長や、転帰の悪化および医療経費の増大等の問題が指摘されている。今回行った薬剤耐性菌感染症の転帰を悪化させる要因の検討はこれら問題点の改善策の立案や、MRSA 感染症の蔓延の防止策を考える上で重要であり感染症治療に貢献できると考える。

F. 健康危機情報

社会的に MRSA や MDRP 感染症が重要視されているが、高齢者の PRSP 感染症の感染率は低いものの、転帰を悪化させる要因であることが明らかとなり、十分な注意が必要と思われる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 平木洋一、平池美香子、花田聖典、三角紳博、河野文夫、宮崎久義、薬剤耐性菌感染症の転帰に及ぼす要因の検討、日本感染症学会雑誌、Vol 85 p 488~493 (2011).

2) Hiraki Y, Hiraike M, Misumi N, Tsuji Y, Kawano F, Kamimura H, Karube Y, Prediction accuracy of generic VCM concentrations determined by parameters estimated by a Bayesian analysis, The Japanese Journal of Therapeutic Drug Monitoring, Vol 28, p 60-66 (2011)

2. 学会発表

1) 厚生労働省薬剤耐性菌サーベイランス事業の(JANIS)公開情報を用いた、国立病院機構のサーベイランスの評価、平木洋一、河野文夫 第 64 回国立病院総合医学会 (福岡)

H. 知的財産権の出願・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 |

新生児における病院感染症の予防あるいは予防対策に関する研究

研究分担者 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）

研究要旨

本研究では、新生児病院感染症の登録システムの開発とその普及を目指し、まず NHSN に準拠した NICU における新しい感染症診断基準作成し、次いで感染症入力シートの普及を行う。昨年度は「NICU 病院感染予防のためのガイドライン」作成を目指し、最終的に「NICU における医療関連感染予防のためのハンドブック」として刊行した。その後全国の NICU に配布（HP でもダウンロード可）した。今年度は、この英文化を行い、海外の NICU 関係者に批判してもらう予定である。2 年前から産科混合病棟の問題点に関するアンケート調査を行っていたが、このたび、論文として周産期新生児医学会雑誌に投稿し査読中である。

NICU 入院児における感染予防対策の検討項目として、PICC の管理に関する全国アンケート調査、NICU におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌保菌・感染症に関する全国調査、2010 年出生極低出生体重児の感染症に関するアンケート調査を施行した。

さらに、新しい問題生起に対する検討項目として①退院後早期の百日咳罹患の予防と、MRSA の交差感染予防のための未滅菌手袋着用によるパチルス感染などを予定している。（496 文字）

研究協力者

早川昌弘（名古屋大学医学部附属病院 周産母子センター/講師・副部長）

大木康史（群馬大学周産母子センター/講師）

大城 誠（名古屋第一赤十字病院 小児保健科/副部長）

森岡一朗（神戸大学医学部小児科 周産母子センター新生児病棟/医長・助教）

堀越裕歩 ICD（東京都立小児総合医療センター 感染症科 感染管理室）

山田恭聖（愛知医科大学小児科/医長）

坂木晴世 ICN（国立病院機構西埼玉中央病院 医療安全管理室）

A. 研究目的

1) 全国 NICU 感染症データ収集に向けて準備を進め、NHSN に準拠した感染症診断基準の改訂も行う。この流れで JANIS の NICU における感染症収集体制も改善するための方策を考える。

2) 「NICU における医療関連感染予防のためのハンドブック」を作成し全国の NICU へ配布する（研究班ホームページからもダウンロード可能）。第 1 版の内容を英文化して、海外の NICU 勤務者からの批判をいただく。

3) 全国総合病院の産科混合病棟と母子同室の実態を調査したので、周産期新生児医学会雑誌に投稿中である。きわめて困難な産科混合病棟の解消方法に病院機能評価との連携を図るよ

う提言する。

4) NICU 入院児における感染予防対策の検討項目として、①PICC の管理に関する全国アンケート調査、②NICU におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌保菌・感染症に関する全国調査、③2010 年出生極低出生体重児の感染症に関するアンケート調査を施行する。

B. 研究方法

1) NICU における感染症の新診断基準改訂に付いて

平成 15 年に作成した感染症診断基準を見直し、NHSN に準拠した新しい診断基準を作成する。NICU 院内感染予防対策ガイドライン作成メンバーのメーリングリストに、両者の基準を流して、各メンバーの意見を取り入れながら 3 回改訂を行った。

2) 「NICU における医療関連感染予防のためのハンドブック」の作成と全国 NICU への配布

平成 16 年 11 月から平成 16 年厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）集中治療部門（ICU, NICU）等、易感染性患者の治療を担う部門における病院感染防止対策に関する研究の武澤班の研究の一環として、NICU 院内感染対策サーベイランス班員（平成 16 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「薬剤耐性菌の発生動向のネットワークに関する研究」で結成）を中心にして、NICU 感染予防対策ガイドラインの作成を開始し、平成 22 年に完成した。

3) 全国総合病院における産科混合病棟の状況について

結果に詳細を示す。

4) PICCの管理に関する全国アンケート調査

結果に詳細を示す

5) 新生児集中治療室におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌保菌・感染症に関する全国調査

結果に詳細を示す

6) 2010年出生極低出生体重児の感染症に関するアンケート調査

結果に詳細を示す

倫理面への配慮：以上の研究に関しては、すべて個人情報特定されるような項目は含まれていない。

C. 研究結果

1) NICUにおける感染症の新診断基準改訂について

<新NICU感染症診断基準> 2012年版

これまでの感染症診断基準と大きく変わった所

血流感染を、基準1で血培陽性症例の敗血症(BSI-LCBI)、基準2は主にカテーテル関連血流感染(CRBSI)とした。臨床的敗血症は血培なしや血培陰性で、医師が敗血症と考えて治療すれば、診断に入れる。挿管や非挿管に関わらず肺炎を定義した。壊死性腸炎は、Bellの分類を参考として添付し、特発性腸穿孔でないことを基準に入れた。皮膚感染症にNTEDとSSSSを入れた。胃腸炎、外耳炎、中耳炎、口腔の炎症は削除した。

血流感染(BSI)

以下の2つの判定基準の少なくとも1つを満たさなければならない。

基準1(BSI-LCBI)

□ 1回以上の血液培養から「認定された病原体」が検出される。

基準2(以下の2つをすべて満たすこと)

□ 以下の徴候や症状を少なくとも1つ有している：発熱(直腸温で38℃を超える)、低体温(直腸温で37℃未満)、無呼吸、徐脈、末梢循環不全、元気がない

□ 一般の皮膚汚染菌(類ジフテリア[Corynebacterium属], バシラス属[B. anthracisは除く], Propionibacterium属, コアグラエゼ陰性ブドウ球菌[S. epidermidisを含む], ビリダンス属連鎖球菌, Aerococcus属, Micrococcus属)が別々の機

会に採取された1回以上の血液培養検体から培養される。

註1、基準1において、「認定された病原体」とは、一般の皮膚汚染菌と考えられる微生物を含まない(皮膚汚染菌のリストは基準2を参照)。認定された病原体のいくつかの例として、S. aureus、Enterococcus属、E. coli、Pseudomonas属、Klebsiella属、Candida属、などがある。

臨床的敗血症(CS)

以下の判定基準をすべて満たさなければならない。

□ 患者は他に確認された原因がなく、以下の臨床的徴候や症状を少なくとも1つ有している：発熱(直腸温で38℃を超える)、低体温(直腸温で37℃未満)、無呼吸、徐脈、末梢循環不全、元気がない

□ 血液培養がなされていない、あるいは血液中に微生物が検出されない。

□ 医師が敗血症に対する治療を開始する。

肺炎(P) (挿管、非挿管をまとめました)

基準1の胸部レントゲン検査において1つ以上に該当し、かつ基準2の2つ以上に該当する場合に肺炎と診断する。

基準1

□ 浸潤影
□ 不透明像

基準2

□ 無呼吸(20秒以上)または徐脈(80/分未満)または安静時頻脈(150/分以上)

□ 新たに生じた多呼吸(60/分を超す)

□ 新たに生じた呼吸困難(陥没呼吸、鼻翼呼吸、呻吟)

□ ラ音、もしくは呼吸音減弱

□ 人工呼吸器設定条件の上昇(挿管時)

□ 膿性の分泌物の増多や気管内吸引液より病原体を検出する(挿管時)。

髄膜炎、脳室炎(M)

以下の2つの判定基準の少なくとも1つを満たさなければならない。