

棟などの閉鎖や汚染部門の閉鎖、あるいは入院患者数の制限も多く文献(19 文献/50 文献:38.0%)でみられた。それ以外の *Acinetobacter* spp. のアウトブレイクに対する感染制御対策では、抗菌薬の使用制限(11 件/50 件:22.0%)、医療従事者の専任化や他部門への移動制限(9 件/50 件:18.0%)、人工呼吸器対策(4 件/50 件:8.0%)、HEPA フィルターの導入や交換などの空調対策(2 件/50 件:4.0%)が特徴的であった。

D. 考察

今回の *P. aeruginosa* と *Acinetobacter* spp. の文献一覧の比較検討から、医療従事者の手指保菌について報告している文献が *Acinetobacter* spp. に比べ *P. aeruginosa* は圧倒的に少ないことが判明した。このことは *Acinetobacter* spp. では環境・医療機器-ヒト感染の他にヒト-ヒト間の交差感染も起こしやすいが、*P. aeruginosa* では多くの場合が環境・医療機器-ヒト感染であると推察される。しかも、医療従事者からの感染例 5 例中 2 例は人工爪使用者や爪の長い医療従事者や、あるいは慢性中耳炎に罹患している者であるなど医療従事者に保菌を助長する要因がみられた。

アウトブレイク期間の最頻値は *P. aeruginosa* の方が *Acinetobacter* spp. よりも短かった。また、再アウトブレイクの頻度も *P. aeruginosa* の方が *Acinetobacter* spp. よりも低かった。これは上記のように *Acinetobacter* spp. では環境・医療機器-ヒト感染の他にヒト-ヒト間の交差感染も多くみられることと、*P. aeruginosa* は、腸内細菌科のグラム陰性桿菌と同様、湿潤環境を好む好気性ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌であるのに対して *Acinetobacter* spp. は、

乾燥状態にも強い抵抗性を示すことが知られており、それらの因子が相まって *P. aeruginosa* よりもアウトブレイク期間の延長、高率な再アウトブレイク率、さらにはアウトブレイクの規模の拡大に繋がっていると考えられた。このことは、感染制御策の相違からも明らかであり、*P. aeruginosa* のアウトブレイクにおける感染制御対策では接触感染予防策に言及している文献は 26.0%(17 件/50 件)で、新規入院の停止を含めた病棟などの閉鎖、汚染部門の閉鎖あるいは入院患者数の制限について言及している文献も 4.0%(2 件/50 件)にすぎなかったのに対し、*Acinetobacter* spp. のアウトブレイクにおける感染制御対策では接触感染予防策に言及している文献は 88.0%(44 件/50 件)、新規入院の停止を含めた病棟などの閉鎖、汚染部門の閉鎖あるいは入院患者数の制限について言及している文献も 82.0%(41 件/50 件)と高い割合に上っていた。また、医療従事者の専任化、他部門への移動制限も *P. aeruginosa* の文献では 6.0%(3 件/50 件)で言及されているにすぎなかったが、*Acinetobacter* spp. の文献では 18.0%(9 件/50 件)で対策として採用されていた。

今回の文献調査では *P. aeruginosa* の感染源・感染経路として、①内視鏡や自動内視鏡再生器(AER)、②病院の給排水システム、③泌尿器科機器・手技、の 3 医療機器及び環境が特徴的であり、*P. aeruginosa* のアウトブレイクの際には第一に調査すべき対象であることが明らかとなった。

P. aeruginosa と *Acinetobacter* spp. 以外に病院内においてアウトブレイクを起こすグラム陰性桿菌として重要なものには、腸内細菌科や *Burkholderia cepacia* や

Stenotrophomonas maltophilia といった他のブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌がある。今後、これらの菌についても同様の検討が必要であると思われた。

E. 文献

なし

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

その他

(研究のため参考にした文献)

- 1) Longtin Y, Troillet N, Touveneau S, et al.: *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a pediatric intensive care unit linked to a humanitarian organization residential center. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 29:233-237, 2010.
- 2) Kohlenberg A, Weitzel-Kage D, van der Linden P, et al.: Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in a surgical intensive care unit. *J. Hosp. Infect.* 74:350-357, 2010.

- 3) Fanci R, Bartolozzi B, Sergi S, et al.: Molecular epidemiological investigation of an outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infection in an SCT unit. *Bone Marrow Transplant.* 43:335-338, 2009.
- 4) Hota S, Hirji Z, Stockton K, et al.: Outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* colonization and infection secondary to imperfect intensive care unit room design. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 30:25-33, 2009.
- 5) Crivaro V, Di Popolo A, Caprio A, et al.: *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit: molecular epidemiology and infection control measures. *BMC. Infect. Dis.* 9:70-76, 2009.
- 6) Pena C, Suarez C, Tubau F, et al.: Nosocomial outbreak of a non-cefepime-susceptible ceftazidime-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* strain overexpressing MexXY-OprM and producing an integron-borne PSE-1 β -lactamase. *J. Clin. Microbiol.* 47:2381-2387, 2009.
- 7) Sunenshine R, Schultz M, Lawrence M, et al.: An outbreak of postoperative gram-negative bacterial endophthalmitis associated with contaminated trypan blue ophthalmic solution. *Clin. Infect. Dis.* 48:1580-1583, 2009.
- 8) Cortes JA, Cuervo SI, Urdaneta AM,

- et al.: Identifying and controlling a multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a Latin-American Cancer Centre and its associated risk factors. *Braz. J. Infect. Dis.* 13 :99-103, 2009.
- 9) Bou H, Lorente L, Aguilar A, et al.: Hospital economic impact of an outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J. Hosp. Infect.* 71:138-142, 2009.
 - 10) Kerr KG, Snelling AM: *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. *J. Hosp. Infect.* 73:338-344, 2009.
 - 11) Kovaleva J, Meessen NEL, Peters FTM, et al.: Is bacteriologic surveillance in endoscope reprocessing stringent enough? *Endoscopy*:41:913-916, 2009.
 - 12) Soderstrom M, Vikatmaa P, Lepantalo M, et al.: The consequences of an outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among patients treated for critical leg ischemia. *J. Vasc. Surg.* 50:806-809, 2009.
 - 13) Sanchez-Carrillo C, Padilla B, Marin M, et al.: Contaminated feeding bottles: The source of an outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a neonatal intensive care unit. *Am. J. Infect. Control.* 37:150-157, 2009.
 - 14) Adachi JA, Perego C, Graviss L, et al.: The role of interventional molecular epidemiology in controlling clonal clusters of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in critically ill cancer patients. *Am. J. Infect. Control.* 37:442-446, 2009.
 - 15) Mansour W, Bouallegue O, Said H, et al.: Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections associated with contaminated water in a university hospital in Tunisia. *Infect. Cont. Hosp. Epidemiol.* 29:378-379, 2008.
 - 16) Satoh R, Tsukada H, Tanabe Y, et al.: An outbreak and isolation of drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* at Niigata university hospital, Japan. *J. Infect. Chemother.* 14:325-329, 2008.
 - 17) Shimono N, Takuma T, Tsuchimochi N, et al.: An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections following thoracic surgeries occurring via the contamination of bronchoscopes and an automatic endoscope reprocessor. *J. Infect. Chemother.* 14:418-423, 2008.
 - 18) Muscarella LF: Reassessment of the risk of healthcare-acquired infection during rigid laryngoscopy. *J. Hosp. Infect.* 68:101-107, 2008.
 - 19) Kayabas U, Bayraktar M, Otlu B, et al.: An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* because of inadequate disinfection procedures in a urology unit: A pulsed-field gel electrophoresis-based epidemiologic study. *Am. J. Infect. Control.* 36:33-38, 2008.

- 20) Leung CH, Wang NY, Liu CP, et al.: Antimicrobial therapy and control of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in a teaching hospital in Taiwan. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 41:491-498, 2008.
- 21) Yakupogullari Y, Otlu B, Dogukan M, et al.: Investigation of a nosocomial outbreak by alginate-producing pan-antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Am. J. Infect. Control.* 36:e13-e18, 2008.
- 22) Eckmanns T, Oppert M, Martin M, et al.: An outbreak of hospital-acquired *Pseudomonas aeruginosa* infection caused by contaminated bottled water in intensive care units. *Clin. Microbiol. Infect.* 14:454-458, 2008.
- 23) Empel J, Fileczak K, Mrowka A, et al.: Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections with PER-1 extended-spectrum β -lactamase in Warsaw, Poland: Further evidence for an international clonal complex. *J. Clin. Microbiol.* 45:2829-2834, 2007.
- 24) Sekiguchi J, Teruya K, Horii K, et al.: Molecular epidemiology of outbreaks and containment of drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Tokyo hospital. *Infect. Chemother.* 13:418-422, 2007.
- 25) Iversen BG, Jacobsen T, Eriksen HM, et al.: An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infection caused by contaminated mouth swabs. *Clin. Infect. Dis.* 44:794-801, 2007.
- 26) Kikuchi T, Nagashima G, Taguchi K, et al.: Contaminated oral intubation equipment associated with an outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas* in an intensive care unit. *J. Hosp. Infect.* 65:54-57, 2007.
- 27) Aumeran C, Paillard C, Robin F, et al. *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* outbreak associated with contaminated water outlets in an oncohaematology paediatric unit. *J. Hosp. Infect.* 65:47-53, 2007.
- 28) Mateos I, Valencia R, Torres MJ, et al.: Nosocomial outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* endophthalmitis. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 27:1249-1251, 2006.
- 29) Berdal JE, Smith-Erichsen N, Bjornholt JV, et al.: Does *Pseudomonas aeruginosa* colonization influence morbidity and mortality in the intensive care unit patient? Experience from an outbreak caused by contaminated oral swabs. *Acta. Anaesthesiol. Scand.* 50:1095-1102, 2006.
- 30) Orsi GB, Villari P, Mondillo V, et al.: A plasma expander-related *Pseudomonas aeruginosa* outbreak. *Scand. J. Infect. Dis.* 38:1085-1088, 2006.
- 31) Prospero E, Barbadoro P, Savini S, et al.: Cluster of *Pseudomonas aeruginosa* catheter-related bloodstream infections traced to

- contaminated multidose heparinized saline solutions in a medical ward. *Int. J. Hyg. Environ-Health.* 209:553-556, 2006.
- 32) Micol JB, De Botton S, Guieze R, et al.: An 18-case outbreak of drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteriemia in hematology patients. *Haematologica.* 91:1134-1138, 2006.
- 33) Vianelli N, Giannini MB, Quarti C, et al.: Resolution of a *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a hematology unit with the use of disposable sterile water filters. *Haematologica.* 91:983-985, 2006.
- 34) Bou R, Aguilar A, Perpignan J, et al.: Nosocomial outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections related to a flexible bronchoscope. *J. Hosp. Infect.* 64:129-135, 2006.
- 35) Pagani L, Colinon C, Migliavacca R, et al.: Nosocomial outbreak caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing IMP-13 metallo- β -lactamase. *J. Clin. Microbiol.* 43:3824-3828, 2005.
- 36) Kenchappa P, Sangwan VS, Ahmed N, et al.: High-resolution genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* strains linked to acute post cataract surgery endophthalmitis outbreaks in India. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 4:19-26, 2005.
- 37) Corne P, Godreuil S, Jean-Pierre H, et al.: Unusual implication of biopsy forceps in outbreaks of *Pseudomonas aeruginosa* infections and pseudo-infections related to bronchoscopy. *J. Hosp. Infect.* 61:20-26, 2005.
- 38) Gales AC, Torres PL, Vilarinho DSO, et al.: Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in an intensive care unit of a teaching hospital. *Braz. J. Infect. Infect. Dis.* 8:267-271, 2004.
- 39) Zawacki A, O'Rourke E, Potter-Bynoe G, et al.: An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia and bloodstream infection associated with intermittent otitis externa in a healthcare worker. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 25:1083-1089, 2004.
- 40) Muscarella L: Contribution of tap water and environmental surfaces to nosocomial transmission of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 25:342-345, 2004.
- 41) Fraser TG, Reiner S, Malczynski M, et al.: Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* cholangitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography: failure of routine endoscope cultures to prevent an outbreak. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 25:856-859, 2004.
- 42) Majumdar S, Kirby A, Berry N, et al.: An outbreak of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. *J. Hosp. Infect.*

- 58:160-161, 2004.
- 43) Guen CGL, Lepelletier D, Debillon T, et al.: Contamination of a milk bank pasteurizer causing a *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a neonatal intensive care unit. Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed.. 88:F434-F435, 2003.
- 44) Jones AM, Govan JRW, Doherty CJ, et al.: Identification of airborne dissemination of epidemic multiresistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* at a CF centre during a cross infection outbreak. Thorax. 58:525-527, 2003.
- 45) Brito DVD, Oliveira EJ, Matos C, et al.: An outbreak of conjunctivitis caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazillian newborn intensive care unit. Braz.J. Infect. Dis. 7:234-235, 2003
- 46) Torii K, Noda Y, Miyazaki Y, et al.: An unusual outbreak of infusion-related bacteremia in a gastrointestinal disease ward. Jpn. J. Infect. Dis. 56:177-178, 2003.
- 47) Pena C, Dominguez MA, Pujol M, et al.: An outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a urology ward. Clin. Microbiol. Infect. 9:938-943, 2003.
- 48) Silva CV, Magalhaes VD, Pereira CR, et al.: Pseudo-outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* related to bronchoscopes. Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 24:195-197, 2003.
- 49) Srinivasan A, Wolfenden LL, Song X, et al.: An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections associated with flexible bronchoscopes. N. Engl. J. Med. 348:221-227, 2003.
- 50) Burkholm G, Tannaes T, Kjelsberg ABB, et al.: An outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* associated with increased risk of patient death in an intensive care unit. Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 23:441-446, 2002.

表1. 文献の年度別内訳

| 年 | 文 献 数 | | | |
|-----------|---------------------------|------|----------------------|------|
| | <i>Acinetobacter</i> spp. | | <i>P. aeruginosa</i> | |
| | 調査文献 | 該当文献 | 調査文献 | 該当文献 |
| 2006~2010 | 26 | 17 | 45 | 34 |
| 2001~2005 | 19 | 18 | 25 | 16 |
| 1996~2000 | 10 | 8 | | |
| 1991~1995 | 9 | 7 | | |
| 計 | 64 | 50 | 71 | 50 |

表2
文献の種類
と
Impact factor

| 文 献 名 | Impact factor | <i>Acinetobacter</i> spp. の文献数 | <i>P. aeruginosa</i> の文献数 |
|----------------------------------|---------------|-----------------------------------|------------------------------|
| N Engl J Med | 51.296 | | 1 |
| Lancet | 25.8 | 1 | |
| JAMA | 23.175 | 1 | |
| Haematologica | 6.532 | | 2 |
| Clin Infect Dis | 6.186 | 1 | 2 |
| Thorax | 6.064 | | 1 |
| J Infect Dis | 5.363 | | |
| Am J Epidemiol | 5.241 | | |
| Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed | 4.734 | | 1 |
| Am J Med | 4.518 | 1 | |
| Intensive Care Med | 4.406 | | |
| Endoscopy | 3.605 | | 1 |
| J Clin Microbiol | 3.445 | 1 | 3 |
| J Vasc surg | 3.311 | | 1 |
| Clin Microbiol Infect | 3.254 | 1 | 2 |
| Pediatr Infect Dis J | 3.215 | 1 | 1 |
| Bone Marrow Transplant | 2.621 | | 1 |
| Am J Infect Cont | 2.489 | 3 | 4 |
| J Hosp Infect | 2.442 | 23 | 9 |
| Eur J Clin Microbiol Infect Dis | 2.33 | 1 | |
| Infect Control Hosp Epidemiol | 2.236 | 13 | 8 |
| J med Microbiol | 2.18 | 1 | |
| BMC Infect Dis | 1.898 | | 1 |
| Acta Anaesthesiol Scand | 1.863 | | 1 |
| Int J Hyg Environ-Health | 1.733 | | 1 |
| Ann Clin Microbiol Antimicrob | 1.71 | | 1 |
| Pathology | 1.643 | 1 | |
| Scand J Infect Dis | 1.56 | | 1 |
| Respir Care | 1.534 | | |
| J chemother | 1.374 | 1 | |
| J Microbiol Immunol Infect | 1.116 | | 1 |
| Postgrad Med J | 1.093 | | |
| Braz J Infect Dis | 0.55 | | 3 |
| J Infect Chemother | | | 3 |
| Jpn J Infect Dis | | | 1 |
| Impact factorの平均 | | 3.396 | 3.57 |
| Impact factorの中央値 | | 2.442 | 2.442 |

図1. アウトブレイクの発生部門

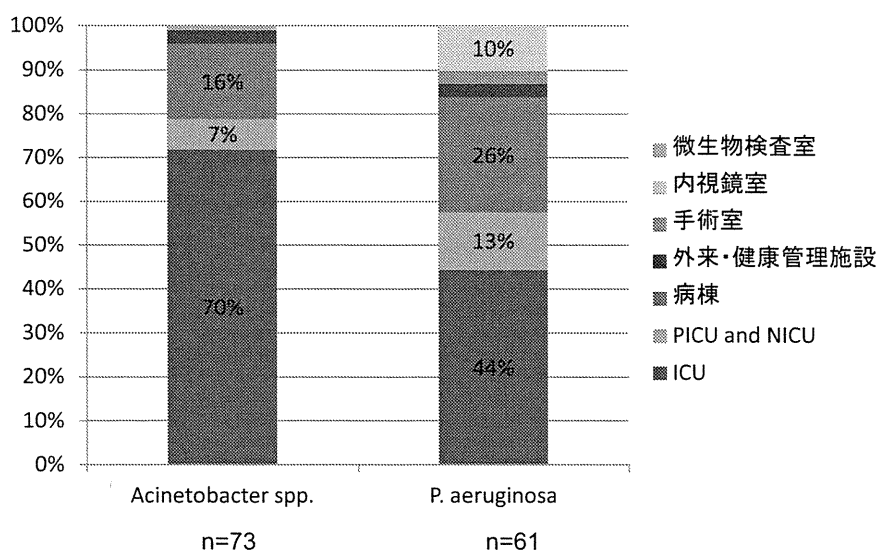


表3. アウトブレイクの発生部門

| <i>Acinetobacter</i> spp. (n=73) | | <i>P. aeruginosa</i> (n=63) | |
|-------------------------------------|-----|--------------------------------|-----|
| 外科系 | 18% | PICU and NICU | 13% |
| 脳神経・神経系 | 10% | 血液系 | 8% |
| 内科系 | 10% | 内視鏡室 | 8% |
| 熱傷・外傷 | 8% | 外科系 | 7% |
| 心臓・心臓血管系 | 7% | 内科系 | 7% |
| PICU and NICU | 7% | 泌尿器科系 | 5% |
| 呼吸器系 | 3% | 移植系 | 3% |
| 胃腸管系 | 1% | 手術室 | 3% |
| 整形外科系 | 1% | 外来・健康管理施設 | 3% |
| 産婦人科系 | 1% | 肝胆膵系 | 2% |
| 微生物検査室 | 1% | 呼吸器系 | 2% |
| 不明 | 33% | 心臓系 | 2% |
| | | 神経系 | 2% |
| | | 血管外科系 | 2% |
| | | 眼科系 | 2% |
| | | 膀胱鏡室 | 2% |
| | | 不明 | 31% |

図2. 推定アウトブレイク期間

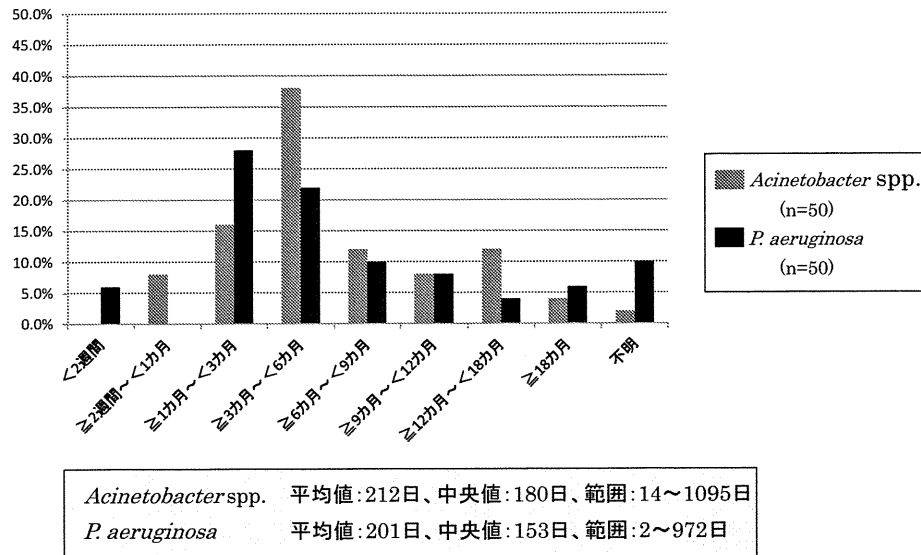
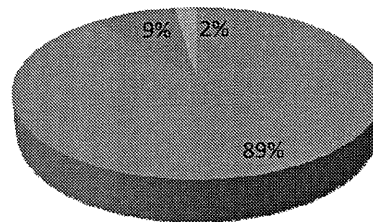
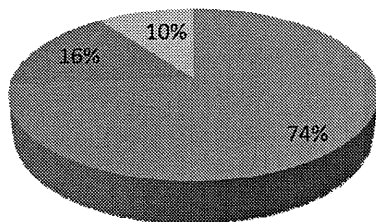


図3. 再アウトブレイク例の頻度

Acinetobacter spp.

P. aeruginosa



n=50

n=45

再発(-)
 再発1回
 再発2回
 再発3回以上

院内アウトブレイクの感染源・感染経路

Acinetobacter spp.

| 汚染源または感染源 | 感染経路 | 件数 |
|---|--|----|
| 医療従事者の手指保菌 | 接触感染 (人工呼吸器のwater trap内の汚染水を捨てる際に汚染した手指で人工呼吸器と経腸栄養を操作することで咽頭・気道に定着) | 21 |
| 感染患者 | 接触感染 (医療従事者の手指を介して感染) | 1 |
| 患者周囲環境及び医療機器、物品 (人工呼吸器、デブリメントと水治療を行う治療室の環境・器械、血圧計のカフ、吸引器、親水性コロイドドレッシング(吸湿性包帯)、コンピューターのキーボードのプラスチックカバー、ベッド枠、患者周囲のカーテン、羽毛枕、医療従事者のガウン、看護に使用した手袋、人工呼吸器の呼気回路チューブ) | 接触感染 | 21 |
| 患者間で使い回す医療機器、器具 (使い捨てのCPAPマスク、新生児処置室の救急蘇生用吸引カテテル、呼吸治療ネブライザー、ビークフローメーター) | 経気道・経口感染 | 4 |
| エアゾルを発生する機器及び操作 (ICUの水平排管システム、空調、開放性吸引、患者ベッド周囲のカーテン) | エアゾルで汚染された周囲環境からの接触感染 (室内気の汚染にはHEPAシステムの機能不全によるものがある) | 5 |
| 熱傷に対する水治療室の環境表面と医療機器 (使い捨てパルス洗浄ガンと吸引筒) | エアゾルによる空気感染 (水治療の際にはね返ったエアゾルによる感染) | 2 |
| 点滴薬 (希釈モルヒネ液、経静脈栄養液) | 点滴による感染 (停電によって冷蔵保存中のモルヒネ溶液内に菌が増殖) (医療従事者の手指によって経静脈液バックが汚染) | 2 |
| 自動同定機器の誤同定 | [pseudo-outbreak] | 1 |

院内アウトブレイクの感染源・感染経路

P. aeruginosa

| 汚染源または感染源 | 感染経路 | 件数 | |
|---|--|--|---|
| 手指保菌 (爪の長いあるいは人工爪を付けた看護婦) | 医療従事者の手指を介しての交差感染 | 4 | |
| 慢性中耳炎 | 医療従事者の手指を介しての交差感染 | 1 | |
| 患者 (親おとよび/あるいは胸部ドレーン留置中の折後創傷部) | 医療従事者の手指を介しての接触感染 | 2 | |
| 環境 | 手術室シンク | 医療従事者の手指を介しての接触感染 (手指衛生シンクから飛散した排水が隣接する薬剤及び滅菌ドレッシング準備区域を汚染) | 2 |
| | 排水システム (排水溝排水トラップ、ビデオの出水口) | エアゾルの吸入あるいはエアゾルで汚染された環境との接触 (エアゾルは洗浄などの行為や床の開放性排水溝から発生) | 5 |
| | 病棟浴室のシャワーヘッド | 吸入、経口、接触感染 (カテテル刺入部ドレッシングが小さいことによるシャワー中の汚染) | 2 |
| | 水道水 (蛇口) | 接触感染 (水道水で希釈した洗浄消毒剤で消毒した環境を介した接触感染) (洗面台に捨てられた水が上方にはねて蛇口を汚染) | 3 |
| 医療機器 | 軟性気管支鏡 | 接触感染 (生検鉗子口の緩んだキャップに定着した菌による感染) (消毒済みの排水水気管支鏡のルンズに使用したことによる気管支鏡を介した感染) | 6 |
| | 自動内視鏡洗浄消毒器(AERI) | 接触感染 (汚染AERで洗浄された気管支鏡による感染) | 2 |
| | EROP内視鏡 | 接触感染 (患者間で薬液する高レベル消毒が不十分であったことによる感染) | 3 |
| | 他の医療器具 (トランプの洗浄に使用した再生ブラシ、イルガサン石鹸、液体石鹸容器、10%ポビドンヨド含有ボトルの先端や表面、磁性喉頭鏡のブレードとハンドル、麻酔室における産量針、換気鏡) | 医療従事者の手指を介しての接触感染 | 7 |
| | 他の医療器具 (結石を採んだ鉗子によってチャンネルが汚染された内視鏡を手術中に使用することで起こる接触感染) (内視鏡、手術に用いた水晶超音波吸引器のフロップと内部チューブ、泌尿器科ドレープの再使用) | 接触感染 (結石を採んだ鉗子によってチャンネルが汚染された内視鏡を手術中に使用することで起こる接触感染) (泌尿器科ドレープの再使用) | 3 |
| 眼科用トリパブルー染色液 | 手術中の点眼で感染 (調剤薬局からの供給されたトリパブルー染色液の汚染: 汚染原因は不明) (使用直前の凍結溶解の不実行) | 2 | |
| 食器、内服に関連した汚染・感染源 (病棟で準備・調整したミルクと哺乳瓶、ミルクバンクバスターライザー、ボトル内のミルクを解冻するのに使用、ボトルウォーマー 授乳用ボトルを温めるのに使用、ボトルウォーマー) | 経口感染、接触感染 (ミルクバンクバスターライザーとボトルウォーマーはミルクボトルの外側を汚染) (汚染ボトルウォーマーを用いた経鼻管による薬の内服や口腔ケア) | 4 | |
| 経静脈製剤による感染 (代用血漿、ヘパリン生理食塩水混合液、静脈内注射液を準備するのに使用したガラス注射器) | 点滴などによる感染 (汚染代用血漿の使い直し、カテテルのフラッシュとヘパリンロック、汚染静脈内注射液の点滴) | 3 | |
| スハイロメーター、ネブライザー、気管内挿管、気管内吸引 | エアゾルで汚染された周囲環境からの接触感染 | 2 | |
| 膀胱洗浄水 | 汚染洗浄水による膀胱洗浄 | 1 | |
| ハイブロック | (口鼻部分)に割れ目やコブと隙間に隙間のある再生ハイブロックの使い直しによる感染 | 1 | |
| 尿管系在細菌叢 | 内因性感染 | 1 | |

アウトブレイク判明時にとられた対策

| 感 染 制 御 対 策 | <i>Acinetobacter</i> spp. 対策数/文献数 | <i>P. aeruginosa</i> 対策数/文献数 |
|--|--------------------------------------|---------------------------------|
| 標準予防策 | 88.0% (44) | 46.0% (23) |
| 接触予防策 | 88.0% (44) | 26.0% (17) |
| 環境、機器(人工呼吸器・内視鏡関連を除く)、物品の適正な滅菌・消毒または改善 | 82.0% (41) | 48.0% (24) |
| 病棟などの閉鎖(新規入院の停止)、汚染部門の閉鎖あるいは入院患者数の制限 | 38.0% (19) | 4.0% (2) |
| 感染者・保菌者調査、アクティブ・サーベイランス、耐性菌・使用抗菌薬サーベイランス | 30.0% (15) | 52.0% (26) |
| 環境・機器調査、手術・検査技術の観察 | 30.0% (15) | 86.0% (43) |
| 抗菌薬の使用制限 | 22.0% (11) | 6.0% (3) |
| 院内教育の徹底 | 18.0% (9) | 12.0% (6) |
| 医療従事者の専任化、他部門への移動制限 | 18.0% (9) | 6.0% (3) |
| 清掃・消毒プロトコルの見直し、実施状況の確認 | 10.0% (5) | 6.0% (3) |
| 人工呼吸器対策 | 8.0% (4) | 0% (0) |
| 医療用具などの使い捨て、あるいは専用化 | 6.2% (4) | 10.0% (5) |
| 気道処置対策(閉鎖式吸引システム、吸引カテーターの使い捨て、無菌的気道処置など) | 6.0% (3) | 2.0% (1) |
| 空調対策(HEPAフィルターの導入、交換など) | 4.0% (2) | 0% (0) |
| 点滴セット、経口栄養液などからの感染対策 | 4.0% (2) | 8.0% (4) |
| 入室する見舞い客、医療従事者、生理検査等の制限 | 4.0% (2) | 0% (0) |
| カルテ調査 | 2.0% (1) | 14.0% (7) |
| 医療従事者の行動監視 | 2.0% (1) | 2.0% (1) |
| 保菌者対策(人工爪の禁止、爪の長さの制限、慢性外耳炎の治療など) | 2.0% (1) | 4.0% (2) |
| 蛇口・シャワーヘッドの交換、水フィルターの設置・交換 | 0% (0) | 14.0% (7) |
| 消化管内視鏡、気管支鏡、自動内視鏡洗浄消毒器(AER)からの感染対策 | 0% (0) | 10.0% (5) |
| 石鹸、クリーム、ローションなどの共用禁止、未開封のものへの交換、撤去 | 0% (0) | 6.0% (3) |
| 水供給システムからの感染対策(高塩素化、パストリゼーション、滅菌水の使用など) | 0% (0) | 6.0% (3) |
| その他 | 18.0% (9) | 16.0% (8) |

()は感染制御対策数

Acinetobacter spp. 対策数 241 文献数 50
P. aeruginosa 対策数 199 文献数 50

JANIS 事業の全般に関する安定運用と改善、精度向上に関する研究

研究分担者 山根 一和 (川崎医科大学公衆衛生学)

研究要旨 JANIS 検査部門は培養検査に提出されたデータを菌株の分離の有無にかかわらず全ての検体情報を提出する必要がある。平成 19 年 7 月にシステムを変更する以前は血液検体と髄液検体について菌が分離された検体データのみを収集していた。参加医療機関には 2007 年以前からデータを提出している医療機関があるため、菌株の分離が無い検体の提出がなされているか 2011 年に検査部門に提出されたデータを用いて解析した。血液および髄液検体において陽性検体のみ提出している医療機関はそれぞれ、血液検体 24 医療機関、髄液検体 20 医療機関であった。また、陽性検体の占める割合が、80%以上の医療機関を異常と仮定すると、該当する医療機関は血液検体 36 医療機関、髄液検体 23 医療機関であった。これらの医療機関については早急に確認が必要と考えられる。また、血液検体が 200 検体以上採取されているにも関わらず、陽性検体が報告されていない医療機関が 2 医療機関あり、併せて確認が必要と考えられる。

研究協力者

山岸 拓也 (国立感染症研究所 細菌第二部)
筒井 敦子 (同上)
網中真由美 (同上)

ム変更に伴い、菌が分離されなかった検体情報についてもデータの提出が必要であるが、このルールが遵守されているか検討をした。

A. 研究目的

厚生労働省が主体となって行っている院内感染対策サーベイランス (JANIS) は平成 19 年 7 月に参加医療機関で実用的かつ効果的なサーベイランスを目指し、大幅なシステムの切り替えを行った。その結果、検査部門および全入院患者部門では毎月のデータ提出後に決まった形式に解析がなされた還元情報が還元され、併せて、期報、年報も還元されるようになった。

データの精度管理はサーベイランスの質を担保するために最も重要な作業の一つである。JANIS の 5 つの部門の中で、検査部門は各参加医療機関の細菌検査システムのデータを参加医療機関自身が JANIS 検査部門データフォーマット¹⁾に変換し、web 上でアップロードすることでデータの提出がなされる。このため各医療機関で準備が必要となる提出用データフォーマットの設定が間違っている可能性や薬剤感受性検査結果の誤入力の可能性がないか精度管理する必要がある。

検査部門では平成 19 年 7 月にシステムを変更する以前は血液検体と髄液検体について菌が分離された検体データのみを収集していた。システ

B. 研究方法

研究の対象は JANIS 検査部門参加医療機関から 2011 年 1 月 1 日～12 月 31 日に提出されたすべてのデータのうち、検査材料コード「401 静脈血」「402 動脈血」(以下 血液検体) および「403 髄液」(以下 髄液検体) とした。検体が採取されたが、菌が分離されなかった場合には、菌名コード「9999 コメントのみ」が入力されていることから、血液検体および髄液検体について「9999 コメントのみ」以外のコードが入力されている検体の全体に占める割合を計算した。

計算式

陽性検体割合 (%) = (全検体数 - 菌名コード 9999 の検体) / 全検体数 × 100

<倫理面への配慮>

本研究はヒトゲノムを扱わない。また使用するデータに個人情報に含まれない。

JANIS 検査部門データを利用するため、統計法(平成 19 年法律第 53 号) 第 33 条の規定に基づき、厚生労働省に調査票情報の提供の申出し、承認を受けた上で情報の提供がなされた。

C. 研究結果

血液検体については653医療機関がデータ提出を行っており、髄液検体については606医療機関がデータ提出を行っていた。

血液検体の検定提出数は1~8090検体(中央値686検体)で、陽性検体数は0~4601(中央値97検体)であった。陽性検体割合は0~100%で中央値は15%であった(図1)。

髄液検体の検定提出数は1~557検体(中央値636検体)で、陽性検体数は0~187(中央値1検体)であった。陽性検体割合は0~100%で中央値は3%であった(図2)。

疑義のあるデータ

1. 血液陽性検体の血液培養検体に占める割合が80%以上 36医療機関
2. 髄液陽性検体の血液培養検体に占める割合が80%以上 23医療機関
3. 血液検体の報告なし 15医療機関
4. 血液検体が200検体以上採取されているが、陽性検体の報告なし 2医療機関
5. 髄液検体の報告なし 62医療機関

D. 考察

今回の調査から、何らかの菌が分離された検体のみを検査部門のデータとして提出している医療機関があるということが明らかになった。陽性検体が占める割合が80%以上であることを異常と仮定すると、血液検体では5.5%、髄液検体では3.8%の医療機関が該当する。15医療機関については血液および髄液検体両方の陽性率が100%となっており、検査で陽性になった検体のみを血液および髄液検体のみならず、その他の検体についても提出している可能性が高い。今回の検討では血液および髄液以外の検体については検討を行っていないため、他の検体についても調査をする必要がある。

血液検体が十分採取されているにも関わらず、菌の分離が報告されていない医療機関が2医療機関あった(それぞれ血液検体を1543検体、272検体採取)。これらの医療機関はシステム設定の異常が疑われるため確認が必要である。

血液検体および髄液検体が採取されていない医療機関もそれぞれ15医療機関、62医療機関あった。JANISは200床以上の医療機関を対象にし

ているが、診療科の種類には規定が無い。比較的小規模な医療機関では診療科に偏りがあり、微生物検査をほとんど行っていない医療機関も現在の検査部門に含まれている。血液検体および髄液検体が採取されない医療機関がある理由の一つと考えられる。米国では血液培養が適正になされているか調べるための基準として、1000患者・日あたりの検査数が103から188の間であることが推奨されている²⁾。JANISにおいて患者・日のデータを収集していないため、現時点では検討ができないが、適切に検体が採取されているか判断するために、定期的に調査を考慮してもよいかもしれない。

E. 結論

血液および髄液検体において菌が分離された検体のみを提出している医療機関があると考えられた。以下の条件に該当する医療機関について確認をする必要がある。

早急に対処が必要な医療機関の条件

1. 血液および髄液陽性検体割合が80%以上の医療機関
2. 血液検体が200検体以上採取されているが陽性検体が報告されていない医療機関

順次確認が必要な医療機関の条件

1. 血液検体および髄液検体の報告がなされていない医療機関

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

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

参考文献

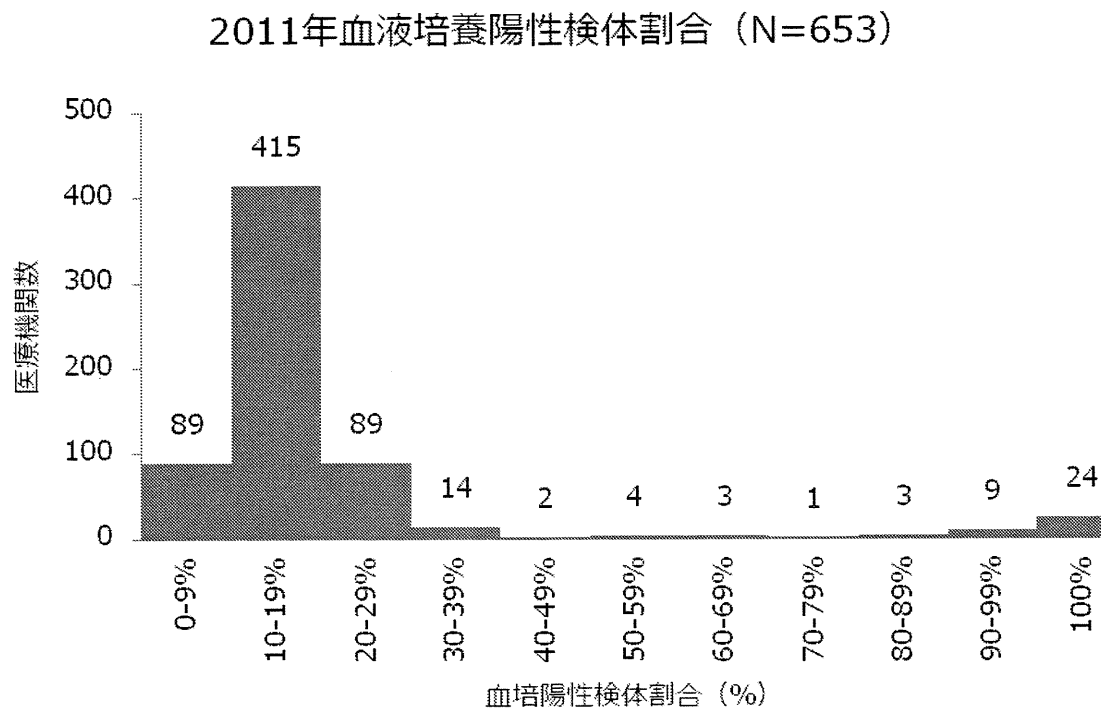
1) 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業
ホームページ 検査部門

<http://www.nih-janis.jp/section/kensa.html>

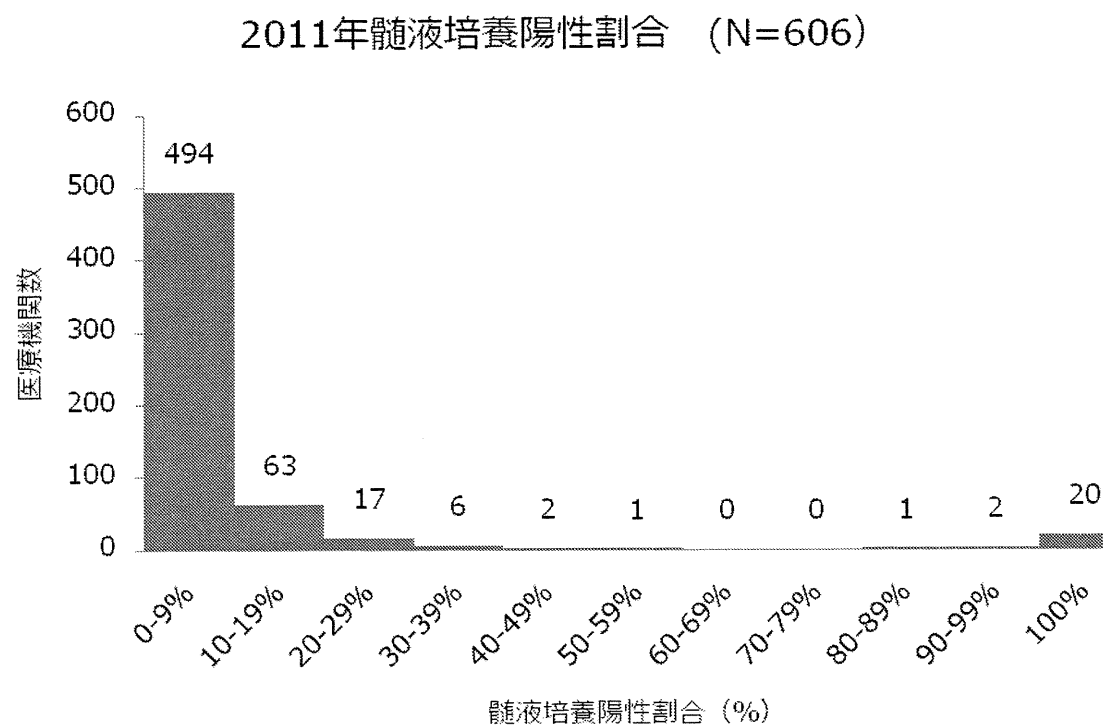
2) CUMITECH 血液培養検査ガイドライン 医歯
薬出版株式会社

図 1

血液培養検体割合の分布



髄液培養検体割合の分布



VRE、MDRP 等の伝播様式と蔓延防止に関する研究

研究分担者 飯沼 由嗣 （金沢医科大学臨床感染症学）

研究要旨

本研究では、多剤耐性緑膿菌（MDRP）等の容易な分子疫学解析法の開発を目的とし、菌株毎に保有状態の異なる open reading frame(ORF)の臨床分離株の保有パターンを利用した分子疫学に関する研究を行った。緑膿菌においては Genomic islet の検出パターンによって MLST 解析から得られる clonal complex レベルの識別が、溶原ファージによって株レベルでの識別が可能であった。その結果をもとに、10 個の genomic islet と 5 個のファージをマルチプレックス PCR で検出する、緑膿菌の迅速分子疫学解析法の開発に成功し、緑膿菌院内感染発生時における分子疫学解析を容易とし、感染管理に貢献する事が期待される。

研究協力者

鈴木 匡弘 愛知県衛生研究所 生物学部
長尾 美紀 京都大学大学院 臨床病態検査学

A. 研究目的

医療関連感染の主要な原因菌として多剤耐性緑膿菌（MDRP）は適切な感染管理を必要としている。感染管理の一法として、集団感染が疑われる際にはパルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE 法）のような分子疫学解析が実施され、感染源調査や集団感染の規模を特定するのに効果を発揮する。また PFGE 法のような分子疫学解析結果を医療スタッフに提示することで、感染管理意識の高まりも期待できる。

ところが、PFGE 法は少なくとも 3 日と時間がかかることに加え、複雑なバンドパターンを解析する必要があり、データベース化や結果報告に手間取ることが多い。また緑膿菌は PFGE パターンが変わりやすく、判断に戸惑うことも多い。PFGE 法の問題点の解決策として、MRSA においては multiplex PCR を利用した phage ORF typing 法（POT 法）が開発された。POT 法では菌株により保有状態の異なる ORF（主に溶原ファージを構成する ORF）を 16 個検出し、その有、無を 1, 0 に置き換えることで遺伝子型をデジタルに捉えることができる。POT 法は 3~4 時間で結果が得られる、PFGE 法と同等の菌株識別能を有しているといった特徴のみならず、遺伝子型のデータベース化や結果報告にも有利であった。このように遺伝子型を ORF の有無で決定するデジタル分子疫学解析法は、感染管理の実用上有利であることを示している。

近年全ゲノム塩基配列の解明が進み多くの菌種で複数株の全ゲノム情報が利用できるようになり緑膿菌においても少なくとも 6 株のゲノム情

報が利用可能である。複数株の全ゲノム情報を比較することで、菌株間の差異に関する情報を容易に得られ、新たな解析法の開発が可能と考えられる。そこで本研究では緑膿菌の全ゲノム配列を比較し、菌株毎に保有状態が異なる部分を選別し、それらの中からタイピングに利用する ORF の候補を選び、臨床分離株における保有状態を調査することで、デジタル分子疫学解析法開発の可能性を検討した。

22 年度までに 3 株 [PA7(NC_009656)、UCBPP-PA14(NC_008463)、PAO1(NC_002516)]の緑膿菌全ゲノム塩基配列を比較、検討して選択した ORF 95 個の中から特に菌株識別に有効と期待される 24 個の ORF に絞り込むことができた。

最終年度では 1.タイピングに用いる ORF の最終選定、2. マルチプレックス PCR 反応系の設計、3. 本研究で新たに開発したタイピング法の菌株識別能評価を行った。

B. 研究方法

菌株

愛知県で分離された 197 株及び新潟県で分離された 4 株、京都府で分離された 9 株、MDRP を中心に全国から収集された 205 株（国立国際医療研究センター研究所、切替照雄先生から分与）を用いた。このうちアウトブレイクが疑われた際に収集した 68 株（環境調査 10 株を含む）については *SpeI* 切断による PFGE 解析ならびにデンドログラム解析を行い、ORF 保有パターンと比較、検討した。また切替先生から分与された 205 株は分与時に添付された PFGE パターンデータとの比較も行った。

検出 ORF の選定

MBGD web site (<http://mbgd.nibb.ac.jp/>) 上で

Pseudomonas aeruginosa 3株 (PA7(NC_009656)、UCBPP-PA14(NC_008463)、PAO1(NC_002516)) の全ゲノム塩基配列を比較した。ファージのゲノム情報も合わせ 122 個の候補 ORF を選択し、臨床分離株による保有状況を調査した。

ST 型が異なる株および同一アウトブレイク由来株を含め 72 株を ORF 選択の指標として利用した。

MLST 解析による clonal complex (CC) に相当する菌株識別能を発揮すると期待される genomic islet については ST 型の異なる株を指標として利用する ORF を絞り込んだ。

同一 clonal complex 株内における菌株識別能を上げる効果が期待されるファージ由来の ORF については同一 clonal complex (CC) 型の株を用いて ORF を選択した。

緑膿菌マーカーの検討

新規に開発したタイピング法による結果と *oprL* 遺伝子検出による緑膿菌マーカーとの結果に矛盾が生じる現象が見られたため、緑膿菌マーカーを新たに選別した。MBGD web site (<http://mbgd.nibb.ac.jp/>) 上で *Pseudomonas* 属菌のゲノムを比較、*P. aeruginosa* だけに見られた ORF を抽出した。候補の中から 8 つの ORF を選び、PCR を用いて 51 株の *P. aeruginosa*、28 株の *P. aeruginosa* 以外の *Pseudomonas* 属菌およびその他の菌 5 株における保有の有無を調査した。

緑膿菌のデジタルタイピング法の設計

タイピングに利用する ORF の臨床分離株における塩基配列を調査し、マルチプレックス PCR 用プライマー設計を行った。

上記に加えメタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子として *imp-1,2,7,11* および *vim-2* 検出プライマーを設計し、タイピングに加えた。

最終的に決定された検出 ORF のうちクローナリティ推定部分 (genomic islet 由来 ORF 10 個) と株レベルでの識別部分 (ファージ及びメタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子) の保有パターンとに分けて遺伝子型番号を付与した。遺伝子型番号は genomic islet 1 - 10 (PCR 反応産物のサイズに従って整列) および phage 1-7 の有無を 1,0 に置き換え、それぞれに 2^0 (1) から 2^9 (512) または 2^6 (64) の係数を掛け合わせ、クローナリティ推定部分 (コード 1) と株レベルでの識別部分 (コード 2) に分けて和を取り遺伝子型とした (表 3)。前半の数値は MLST 解析で得られる clonal complex 相当の菌株識別能が期待され、後半の数値は菌株識別に有効と期待される。

新規開発法による緑膿菌のタイピング

415 株の臨床分離株を新規開発した方法でタイピングした。

緑膿菌と同等された分離株を、トリプトソイ寒天培地を用いて 37°C で一晚培養した。培養した菌をトリス-EDTA バッファー 100 μl 中に懸濁し、100°C で 10 分間加熱した。次いで 14,000rpm で 3 分間遠心分離し、その上清を DNA 熱抽出サンプルとした。

Roche の FastStart DNA polymerase を説明書に従って使用した。その際、反応液量は 20 μl とした。反応液 20 μl の組成は、10×FastStart Taq Buffer 2 μl、10mM dNTP Mix 0.4 μl、DMSO 0.6 μl、FastStart Taq DNA polymerase 0.2 μl、蒸留水 14.1 μl および primer mixture 1 もしくは 2 を 0.2 μl である。なお primer mixture の各 primer 濃度は 20pM であり、最終濃度は各 0.2pM である。これに、上記の DNA 熱抽出サンプルを 2 μl (反応液の 1/10 量) 加えた。

プライマーは 10 組 (ポジティブコントロール用のプライマー 1 組およびカルバペネム耐性遺伝子検出用プライマー 3 組を含む) を組み合わせ 2 本の反応チューブを使用しマルチプレックス PCR を行った。

multilocus sequence typing (MLST)

名古屋医療センターで 2009~2010 年に分離された 2 剤耐性以上の分離株および血液培養から分離された株合計 60 株を MLST 解析した。また、ORF 保有パターンの異なる分離株 49 株についてもクローナリティを明確にする目的で MLST 解析を行った。MLST 解析は既報に従い、PubMLST (<http://pubmlst.org/>) データベースにて検索し、Sequence type (ST 型) を決めた。

倫理面への配慮

本研究では患者情報を切り離した臨床分離菌株のみを取り扱い、患者情報は不明であるため、倫理上の問題は発生しない。

C. 研究結果

検出 ORF の選定

指標とした株において clonal complex の識別ができるよう 10 個の genomic islet を選択した。また分離株数が増えると予想された CC235 および CC357 における菌株識別能向上を期待し、5 個のファージ由来 ORF を選択した (表 1)。

緑膿菌マーカーの検討 (表 2)

緑膿菌マーカーの候補として PA0121、PA0254、PA0843、PA1019、PA1364、PA3609、PA3795 (全て PAO1 株全ゲノムデータにおける ORF 番号) の 7 カ所を選び出した。このうち PA1019 は *P.*

nitroreducens 6株中5株で増幅バンドが見られた。他の6個については *P. aeruginosa* のみで目的サイズの増幅バンドが見られ、かつ *P. aeruginosa* 以外では増幅バンドが見られなかった。この6個の候補の中から全ゲノム配列解析株間で最も保存の良い PA3609 (*potC*, polyamine transport protein PotC) を緑膿菌マーカーとして用いることとした。

緑膿菌のデジタルタイピング法の設計

各増幅 ORF の増幅効率、相互作用を考慮し、増副産物サイズが 506bp から 85bp となるようにプライマーを設計し、10-plex PCR の 2 反応系とした (表 1)。なお、reaction mixture 2 における imp の増幅プライマーは 2 組混合しているが、増幅サイズが同一であるため区別がつかない。従って reaction mixture 2 における最大増副産物バンド数は 9 本となった (図 1)。

新規開発法による緑膿菌のタイピング

415 株の臨床分離株を新規開発法でタイピングした結果 107 遺伝子型に分類できた。遺伝子型のコード化は表 3 の方法で行った。

このうち集団感染が疑われた事例では 410-8 が 20 株、および 646-8 が 24 株見られた (図 2)。PFGE クラスタと の比較では 410-8 は 78.99% のホモロジーを示し、646-8 の集団は 93.97% のホモロジーを示した。両者はアウトブレイクとされた集団と等しかった。また、アウトブレイクとは異なるとされたがホモロジー 80.56% の PFGE クラスタに分類された株は 249-16 と同一遺伝子型となった。

また、MDRP を中心とした大きなクラスタは 207-1 が 72 株と多くを占めた。これらの株はホモロジーおよそ 82% のよく似た PFGE パターンのクラスタに分類された。

multilocus sequence typing (MLST) との比較

40 の ST 型に分類された 85 株についてはコード 1 の値と ST 型が 1 対 1 で対応していた (表 4-1)。一方 15 の ST 型に分類された 24 株のコード 1 の値は 10 種類のみであった (表 4-2)。同一のコード 1 に 2 種類の ST 型が含まれる場合が 6 とおり見られ、一方同一 ST 型が 2 つのコード 1 に分かれたものが 1 組見られた。またコード 1=282 には 2 種類の ST 型 (ST852 single locus variant, ST244) が見られたが、ST244 の 2 株はコード 1=382 と 383 に分かれた。

D. 考察

本研究で開発された方法の菌株識別能力は PFGE パターンをクラスタ解析した際のホモロ

ジー 80% 程度に相当すると予想される。同一アウトブレイクから得られた菌株間でも PFGE パターンの変化がしばしば観察されることを考慮すると、同一アウトブレイク由来株が確実に同一遺伝子型に分類されると期待され、判定が容易になるという点で優れる。

一方由来の異なる菌株が同一遺伝子型に分類される可能性が懸念される。同一病院で分離されるアウトブレイクとは関連のない *P. aeruginosa* をタイピングしたところ MLST 解析でも区別がつく程度に多様性高い結果が得られた。したがって多くの場合本研究で開発された程度の菌株識別能でも十分にアウトブレイクを認識できると考えられる。

コード 1 の値はおおむね MLST 解析結果を反映したが、一部で異なる ST 型を識別できない場合が見られた。本研究ではわかりやすさを考慮し、検出する genomic islet の数を 10 個に絞ってある。10 個の ORF 保有パターンでは 1024 とおりの遺伝子型しか区別することができないため、多様な ST 型が報告されている *P. aeruginosa* の ST 型をすべて表現することは不可能である。多くの場合実用上問題ないレベルの菌株識別能力が実現できていると考えるが、実用上の問題が出てきた場合は検出 ORF の追加を検討する必要がある可能性がある。

コード 2 の値によって同一 clonal complex 株間の菌株識別能が向上している。菌株間の違いは主に溶原ファージの有無と数であったが、*P. aeruginosa* のファージはモザイク構造を取っておらず、ファージ検出による菌株識別能の向上には限界があると考えられた。

P. aeruginosa のマーカーとしては *oprL* がしばしば用いられてきた。*oprL* はマルチプレックス PCR に組み込んだ場合でも増幅効率が高く擬陰性が出にくいと考えられたが、特異性が低い。今回の調査でも *P. aeruginosa* 以外の *Pseudomonas* 属菌でも陽性となり遺伝子型判定に混乱を招く可能性が考えられた。本研究で採用した *potC* は *P. aeruginosa* 特異的であり、菌株間の保存も良くマルチプレックス PCR に組み込んだ場合の増幅効率も高いため *P. aeruginosa* マーカーとしての利用が期待される。

E. 結論

Genomic islet とファージを検出することでデジタルタイピング法が開発に成功した。Genomic islet の検出パターンによって MLST 解析から得られる clonal complex レベルの分類を、ファージ検出によって株レベルでの識別が実現できた。本法により院内感染発生時の分子疫学解析が迅速に実施可能となるとともに *P. aeruginosa* の流行ク

ローン調査にも有効と期待される。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Suzuki M, Yamada K, Nagao M, Aoki E, Matsumoto M, Hirayama T, Yamamoto H, Hiramatsu R, Ichiyama S, Iinuma Y: Antimicrobial ointments and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300. *Emerg. Infect. Dis.* 17:1917-1920. (2011)

2) Matsushima A, Takakura S, Yamamoto M, Matsumura Y, Shirano M, Nagao M, Ito Y, Iinuma Y, Shimizu T, Fujita N, Ichiyama S. Regional spread and control of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* in Kyoto, Japan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011 Oct 4. [Epub ahead of print]

3) Nagao M, Iinuma Y, Igawa J, Saito T, Yamashita K, Kondo T, Matsushima A, Takakura S, Takaori-Kondo A, Ichiyama S. Control of an outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a haemato-oncology unit. *J Hosp Infect.* 2011 79(1):49-53.

4)

2. 学会発表

1) 鈴木匡弘、他、2次元キャリアマップによるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌水平伝播推測の Phage ORF typing 法による検証、第85回日本感染症学会総会（2011年4月）東京都

2) Suzuki M et al. Evaluation of novel *Staphylococcus aureus* genotyping method called Phage ORF typing by detecting phage-derived ORFs, Staphylococcal cassette chromosome *mec* and genomic islets. IUMS2011, Sapporo, Japan

3) 長尾美紀、他、京都大学医学部附属病院で分離された市中感染型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 USA300 クロンの検討、第58回臨床検査医学会学術集会（2011年11月）岡山市

3) 鈴木匡弘、飯沼由嗣、他、市中獲得型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 USA300 の市販抗菌薬軟膏耐性、第40回薬剤耐性菌研究会（2011年12月）群馬県渋川市

4) 鈴木匡弘、長尾美紀、飯沼由嗣、他、市中獲得型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 USA300 の市販抗菌薬軟膏耐性、第23回日本臨床微生物学会総会（2012年1月）横浜市

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特願2012-10593

緑膿菌の遺伝子型別分類およびこれに用いるプライマーセット

表 1 検出 ORF と PCR 増副産物サイズ

| Reaction mixture 1 | | | Reaction mixture 2 | | |
|--------------------|------------|-----|--------------------|------------|-----|
| | ORF name | bp | | ORF name | bp |
| 緑膿菌マーカー | PA3609 | 506 | 緑膿菌マーカー | PA3609 | 506 |
| islet-1 | PA7_0045 | 336 | islet-6 | PA3065 | 324 |
| islet-2 | PA14_27990 | 281 | islet-7 | PA4549 | 271 |
| islet-3 | PA7_1768 | 235 | islet-8 | PA5264 | 238 |
| islet-4 | PA1509 | 201 | islet-9 | PA14_46400 | 204 |
| islet-5 | PA7_3188 | 175 | islet-10 | PA14_10960 | 176 |
| vim-2 | | 151 | phage-4 | PA7_2363 | 150 |
| phage-1 | PA7_0104 | 126 | phage-5 | D3p35 | 124 |
| phage-2 | PLES_26051 | 103 | imp-1/2 | | 105 |
| phage-3 | PA7_5342 | 85 | imp-7/11 | | 105 |

表 2 緑膿菌マーカー候補における各菌の PCR 反応陽性数

| Species | No of strain | PA | PA | PA | PA | PA | PA | PA | <i>oprL</i> |
|---|--------------|------|------|-------------|-------------|------|-------------|------|-------------|
| | | 0121 | 0254 | 0843 | 1019 | 1364 | 3609 | 3795 | |
| | | | | <i>plcR</i> | <i>mucK</i> | | <i>potC</i> | | |
| <i>P. aeruginosa</i> | 51 | 51 | 51 | 51 | 51 | 51 | 51 | 51 | 51 |
| <i>P. agarici</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. alcaligenes</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. alcaliphila</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. brassicacearum</i> subsp. <i>brassicacearum</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. chlororaphis</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. flavescens</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>P. fluorescens</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. fragi</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. fulva</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>P. jinjuensis</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>P. mendocina</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. nitroreducens</i> | 6 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| <i>P. oleovorans</i> subsp. <i>oleovorans</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. putida</i> | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. stutzeri</i> | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>P. taetrolens</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. tolaasii</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Azotobacter vinelandii</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Brevundimonas diminuta</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |