

肺炎球菌のケトライド耐性機構ならびに耐性伝播機構に関する研究

研究分担者 山本 友子 （千葉大学大学院薬学研究院・微生物薬品化学研究室）

研究要旨

本研究では、肺炎球菌の Telithromycin (TEL) 高度耐性機構の解明を目的に、国内で臨床より分離された TEL 低感受性株 S1 (MIC=1 µg/ml) から TEL 選択により耐性菌 SP36 (MIC=32 µg/ml) および SP52 (MIC=512 µg/ml) を分離し、その耐性機構を検討した。次世代シーケンス解析により TEL 耐性に関わる新規の遺伝子 *rlmAII* を同定した。*RlmAII* は rRNA の TEL 結合サイト A752 に近い G748 をメチル化する。このメチル化活性を失うことにより TEL の結合力が低下し耐性化したと考えられる。さらに高度耐性化した SP52 は *rlmAII* の変異に加えて riboprotein L22 の変異 (K94E) を有していた。高度耐性化には同時に *ermB* 遺伝子が必須であった。*rlmAII* の欠損と L22 変異、*ermB* の組合せにより TEL 高度耐性化することを明らかにし、肺炎球菌ケトライド高度耐性菌出現の予知情報提供に貢献すると期待できた。

研究協力者

高屋 明子 （千葉大学大学院薬学研究院
・微生物薬品化学研究室）
佐藤 慶治 （千葉大学大学院薬学研究院
・微生物薬品化学研究室）

構築した方法を用いた (Takaya A et al. 2010. Mutational analysis of reduced telithromycin susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolated clinically in Japan FEMS Microbiol. Lett 307: 87-93)

A. 研究目的

呼吸器感染症の主要な起因菌である肺炎球菌の多剤耐性化が進行し、なかでも繁用されるマクロライド系抗菌薬に対する高度耐性化が深刻な問題となっている。Telithromycin (TEL) はマクロライド高度耐性菌にも有効なケトライド系抗菌薬で、マクロライド耐性肺炎球菌性肺炎の治療に使用されてきたが、既に欧米では TEL 低感受性肺炎球菌の増加と高度耐性菌が報告されている。わが国においても、耐性菌の出現と増加が懸念されることから、それを防止する為に調査と監視を継続しつつ、さらに実効ある対策を講じる事が急務となっている。本年度は、肺炎球菌の TEL 高度耐性機構の解明をめざす。

B. 研究方法

1. MIC (最小発育阻止濃度) については CLSI 法に準じて測定した。培地は血液寒天培地 (ミュラーヒントン寒天培地 + 5% 馬脱繊維血) を用い、37°C、5% CO₂ 存在下で培養した。
2. 薬剤: TEL は、ケテック錠 (サノフィ・アベンティス) から抽出後、再結晶化した。構造は C-13NMR により確認し、力価は、ATCC29213 株を用いて MIC 測定とディスク拡散法によって評価した。その他の薬剤は市販のものを用いた。
3. 遺伝子欠損株の作製並びに形質転換は我々が

4. PCR、プライマーエクステンションは定法に従った。
5. ゲノム塩基配列の決定には次世代シーケンス GS Junior (Roche) を用いた。

倫理面への配慮

本研究で得られる菌株は、分離した医療機関において、連結可能匿名化することにより、研究者に患者の特定ができないよう配慮した。また、研究成果の発表にあたっては、患者の氏名などは一切公表しないこととする。

C. 研究結果

(1) TEL 高度耐性菌の分離

2007 年に全国調査により分離された TEL 低感受性菌 S1 (MIC=1µg/ml) から、TEL (8µg/ml, 16 µg/ml) 選択により 1 世代目の耐性菌 Sp36 (MIC=32µg/ml) を分離した。さらに Sp36 より高濃度 TEL (128µg/ml, 256 µg/ml) 選択により 2 世代目の耐性菌 Sp52 (MIC=512µg/ml) を分離した。

(2) TEL 高度耐性菌の *ermB* の解析

各株が保有する外来性耐性因子 *ermB* を欠失させるといずれも MIC は感受性レベル (<0.03µg/ml) まで低下したことから、TEL 耐性には *ermB* がコードする methylase による rRNA A2058 位のメチル化が必須であると考えられた。そこで *ermB* 構造遺伝子と周辺の塩基配列を決定したところ、変異は見いだせなかったことから、

各株の *ermB* の発現量を比較することとした。

ermB のコードする methylase は 23s rRNA A2058 位をメチル化する酵素である。そこで S1, Sp36, Sp52 各菌株中のメチル化の割合を測定した (図 1)。その結果、3 菌株間に A2058 位メチル化レベルの有意な差がないことが明らかとなった。以上の事実から、Sp36, Sp52 の TEL 高度耐性に *ermB* は必要条件ではあるが、十分条件ではなく他の因子も関わっていると考えられた。

(3) TEL 高度耐性肺炎球菌の

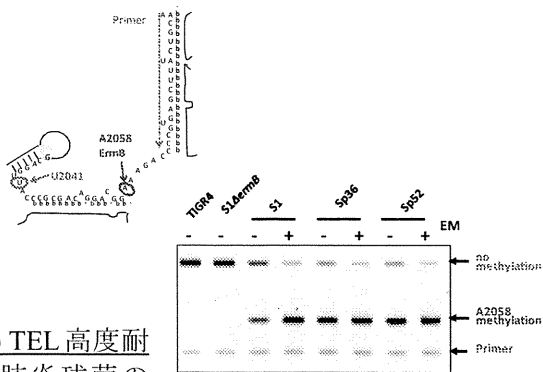
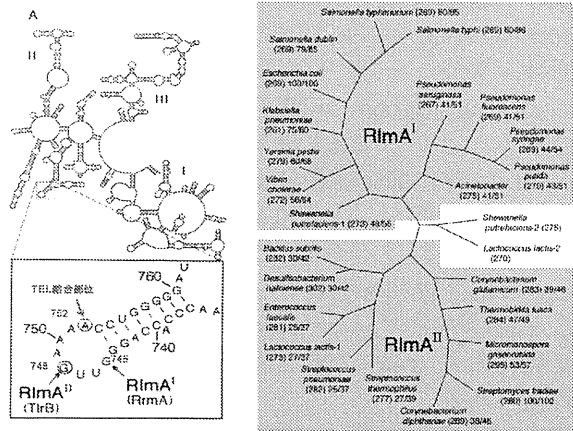


図1 プライマーエクステンションによるA2058メチル化の検討
全ゲノム解析

Sp36, Sp52 の TEL 高度耐性化の原因を明らかにするために、次世代シーケンスによる全ゲノム解析を行った。親株の S1 との間に変異の見られた遺伝子を表 1 に示した。この中で Sp36 に変異が生じた遺伝子 *rlmA^{II}* につき詳細な検討を行った。

表1 S1, Sp36, Sp52 の次世代シーケンス解析

Gene	S1	Sp36	Sp52
23S rRNA m1G748 methyltransferase (<i>RlmA^{II}</i>)	R200	C200	C200
Competence-induced protein (<i>Ccs4</i>)	T155	A155	A155
Degenerate transposase	A64	G64	G64
Threonine synthase (<i>ThrC</i>)	R462	P462	P462
Glycosyltransferase	A21	V21	V21
Ribosomal protein L22 (<i>RplV</i>)	K94	K94	E94
Maltose/maltodextrin ABC transporter2C permease protein (<i>MalF</i>)	W234	W234	* 234
Acyltransferase family	A339	A339	T339

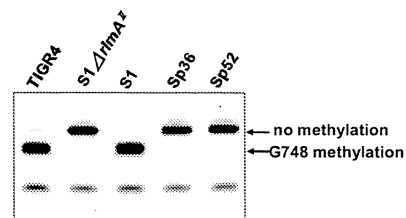


(4) 図2 細菌間に保存されるRlmAとRlmA^{II}

rlmA^{II} 遺伝子の変異と TEL 耐性の関連

rlmA^{II} は、23s rRNA G748 位をメチル化する methylase をコードする遺伝子で、*rlmA^I* とともに細菌間に広く存在する (図 2)。

RlmA^{II} と TEL 耐性の関係を明らかにするため S1 の *rlmA^{II}* 遺伝子欠損株を作成し TEL 耐性を調べた (図 3)。*rlmA^{II}* 遺伝子欠損により TEL 耐性 (MIC=16 μg/ml) となったことから、Sp36 は *rlmA^{II}* 遺伝子の変異により TEL 耐性化したと考えられた。



MIC _{TEL} (μg/mL)					
S1	2	Sp36	32	Sp52	>512
S1? <i>rlmA^{II}</i> #	16	Sp36? <i>rlmA^{II}</i> #	32	Sp52? <i>rlmA^{II}</i> #	>512

図3 RlmA^{II} メチル化活性とTEL耐性

(5) riboprotein L22 の変異と TEL 耐性の関連

Sp52 は Sp36 より得られた TEL 高度耐性菌である。ゲノム解析の結果から (表 1) *rlmA^{II}* の変異に加えて ribosomal protein L22 に K94E の変異が生じていることが明らかとなった。

(6) 肺炎球菌の TEL 高度耐性機構

肺炎球菌は外来性の *ermB* の獲得、*rlmA^{II}* の変異、ribosomal protein L22 上の K94 残基の変異により相乗的に TEL 高度耐性化することが明らかとなった。

マクロライド系抗菌薬は 23s rRNA domainV の

A2058 に結合し蛋白合成を阻害するが、*ermB* 等の methylase により A2058 がメチル化されると抗菌活性を失う。一方、TEL は A2058 に加え、構造中の alkyl-aryl group が rRNA domainII の A752 に結合することから *ermB* 保有株にも抗菌活性を示す。TEL は特に肺炎球菌に強い抗菌力を示すことが知られていたが、本耐性機構の研究結果は、同時に野生株における G748 のメチル化が alkyl-aryl group の結合親和性をあげ強い抗菌活性をもたらすことを示唆している (図 4)。肺炎球菌は *rlmA*^{II} の変異により TEL の結合力が低下し耐性化したと考えられる。

肺炎球菌は高発現 *erm* 遺伝子の獲得により各種マクロライド系抗菌薬には耐性化するが TEL には耐性化しない。一方、黄色ブドウ球菌は *erm* 遺伝子獲得により容易に TEL 高度耐性化する (表 2)。これは黄色ブドウ球菌が本来 *rlmA*^{II} 遺伝子を保有していないことに起因すると考えられる。

表2 グラム陽性菌の*erm*遺伝子群によるTEL耐性

host	erm gene	MIC (µg/ml)	
		telithromycin	erythromycin
<i>S. pneumoniae</i> TIGR4	-	<0.125	<0.125
	<i>erm(A)</i>	2	>128
	<i>erm(B)</i>	1	>128
<i>S. aureus</i> RN4220	-	<0.125	<0.125
	<i>erm(A)</i>	>128	>128
	<i>erm(B)</i>	>128	>128

D. 考察

本年度の研究により肺炎球菌は、外来性の *ermB*

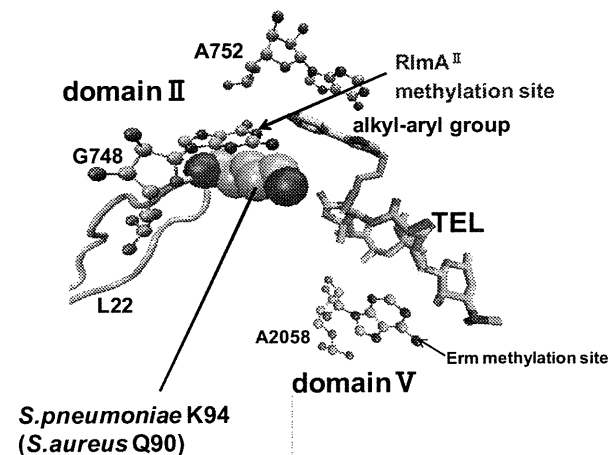


図4 TEL結合サイトの構造

獲得、*rlmA*^{II} の変異、riboprotein L22 上の K94 残基の変異により相乗的に TEL 高度耐性化することが明らかとなった。

E. 結論

肺炎球菌の多剤耐性化が急速に進行し、中でも繁用されるマクロライドに対する高度耐性化が深刻な問題となっている。TEL はマクロライド高度耐性菌に有効であるが、欧米をはじめとする諸外国では、すでに TEL 高度耐性菌が分離されておりわが国においてもその出現と増加は懸念されてきた。現在のところ国内での出現は低いものと考えられる。これは国内では TEL の使用頻度が低い現状を反映していると推察できる。しかしマクロライドのみの使用によって、ケトライド低感受性菌が選択されて確実に増加していることさらに耐性菌が出現することが明らかとなった。さらに外来遺伝子 *ermB* の獲得に、23S rRNA の G752 をメチル化する酵素遺伝子 *rlmA*^{II} の変異、トリボソーム蛋白の変異が加わることにより容易に TEL 高度耐性化することが明らかとなったことから、それを防止する為に調査と監視を継続しつつ、実効ある対策が必要である。

F. 研究発表

1. 学会発表

- M. Ito, T. Shibata, A. Takaya, Y. Sato, K. Endo and T. Yamamoto. Telithromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* clinically isolated between 2009 and 2010 in Japan. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology Sep. (2011)
- K. Sone, A. Takaya, Y. Sato and T. Yamamoto. Combination of *erm* gene and mutation in riboproteins results in high-level telithromycin resistance in *Streptococcus pneumoniae*. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology Sep. (2011)
- 高屋明子, 曾根佳央里, 佐藤慶治, 山本友子 肺炎球菌のテリスロマイシン高度耐性化機構 第94回日本細菌学会関東支部総会 10月 (2011)
- 高屋明子, 曾根佳央里, 佐藤慶治, 山本友子 肺炎球菌のテリスロマイシン高度耐性機構 第40回耐性菌研究会 11月 伊香保 (2011)
- 柴田智久, 高屋明子, 佐藤慶治, 山本友子 臨床分離肺炎球菌のテリスロマイシン耐性

機構 第 85 日本細菌学会総会 長崎 3 月
(2012)

- ・ 高屋明子, 曾根佳央里, 佐藤慶治, 山本友子
肺炎球菌におけるテリスロマイシン作用機
構 第 85 日本細菌学会総会 長崎 3 月
(2012)

G. 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

肺炎球菌のカルバペネム耐性機構の解析

研究分担者 常 彬（国立感染症研究所 細菌第一部）

研究要旨

日本国内の小児侵襲性感染症から分離された肺炎球菌の薬剤感受性の解析を行ってきた。561 株中メロペネムの MIC が $\geq 0.5 \mu\text{g/mL}$ を示す肺炎球菌は 21 (3.7%) 株であった。そのうちメロペネムの MIC が $1 \mu\text{g/mL}$ を示す肺炎球菌 1 株が見出された。メロペネムの MIC が $0.5 \mu\text{g/mL}$ と $1 \mu\text{g/mL}$ を示す菌の PBP1a、PBP2x、PBP2b のアミノ酸配列を調べ結果、メロペネムの MIC が $1 \mu\text{g/mL}$ を示す肺炎球菌の PBP2b のアミノ酸配列は *Streptococcus mitis* B6 株の PBP2b と高い相同性があり、MIC が $0.5 \mu\text{g/mL}$ 肺炎球菌の PBP2b の C 末端配列と明らかな違いが見られた。これらの C 末端の違いは肺炎球菌のカルバペネムに対する高度耐性に関する可能性を示唆した。

研究協力者

和田昭仁

日光市民病院

肺炎球菌 561 株 (PCV7 導入前：258 株；PCV7 導入後：303 株) を対象とした。分離された肺炎球菌に対して、微量液体希釈法による薬剤感受性試験を行った。

A. 研究目的

7 価肺炎球菌コンジュゲートワクチン (PCV7) は、日本には 2010 年 2 月に導入され、PCV7 の接種率の増加と肺炎球菌による感染症の発症率の減少が期待されている。効果が期待される一方、PCV7 に含まれない血清型による侵襲性感染罹患率の増加および分離菌の化学療法剤に対する低感受性化/耐性化が懸念されている。本分担研究は、日本国内の小児侵襲性感染症から分離された肺炎球菌の血清型および薬剤感受性の解析を行った。本報告書では、メロペネム耐性肺炎球菌のペニシリン結合タンパクのアミノ酸配列の比較解析に関する結果をまとめ、肺炎球菌のカルバペネム耐性機構を解明することを目的とした。

B. 研究方法

2007 年 7 月から 2011 年まで、日本国内の小児侵襲性感染症から分離された肺

C. 研究結果

本報告書のすべての集計は症例数をもとに行った。小児侵襲性感染症例 561 株中、ペニシリン G の MIC が $\leq 0.06 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.12\text{--}1 \mu\text{g/mL}$ 、 $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ を示した株は、それぞれ 221 株、263 株、78 株であった。メロペネムの MIC が $\geq 0.5 \mu\text{g/mL}$ を示した株は 21 株で、3.7% であった。そのうちの 1 株 (0.2%) はメロペネムの MIC が $1 \mu\text{g/mL}$ を示した。この株のペニシリン G に対する MIC は $2 \mu\text{g/mL}$ であった。

肺炎球菌のカルバペネム耐性機構を明らかにするため、メロペネムの MIC が $0.5 \mu\text{g/mL}$ と $1 \mu\text{g/mL}$ を示す肺炎球菌の PBP1a、PBP2x、PBP2b のアミノ酸配列を決定し、比較した。メロペネムの MIC が $0.5 \mu\text{g/mL}$ と $1 \mu\text{g/mL}$ を示す肺炎球菌の PBP1a、PBP2x の

配列には違いが見られなかった。一方、メロペネムの MIC が 1 µg/mL を示す肺炎球菌の PBP2b のアミノ酸配列は *Streptococcus mitis* B6 株の PBP2b と高い相同性があり、MIC が 0.5 µg/mL 肺炎球菌の PBP2b の C 末端の配列と明らかな違いが見られた。これらの C 末端のアミノ酸の肺炎球菌がカルバペネムに対する高度耐性に関与するかどうかをさらに解析し続ける予定である。

D. 考察

米国では、PCV7 導入後、ワクチンに含まれない血清型による侵襲性感染罹患率の増加および分離菌のペニシリンに対する低感受性化/耐性化が見られている (Pai et al., J. Infect. Dis. 2005, 192:1988-1995)。我々は *Streptococcus mitis* B6 株の pbp2b 遺伝子を有する肺炎球菌を見出した。この PBP2b は肺炎球菌のカルバペネム耐性に関与する可能性が示唆された。自然形質転換能力を持つ肺炎球菌の β-ラクタム剤耐性に関与する PBP をコードする遺伝子は菌種内、あるいは種を超えて伝播する可能性が考えられた。日本国内でのワクチン接種率の上昇とともに、莢膜抗原合成系遺伝子群の水平伝播による血清型の変化や薬剤耐性遺伝子の獲得による高度耐性肺炎球菌をモニターする必要がある。

E. 結論

肺炎球菌の β-ラクタム剤耐性に関与する PBP2b はカルバペネムへの高度耐性に関与する可能性があり、さらに解析し続ける必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Tomohiro Oishi, Akihito Wada, Bin Chang, Shinichi Toyabe, and Makoto Uchiyama. 2011. Serotyping and multilocus sequence typing of *Streptococcus pneumoniae* isolates from the blood and posterior nares of Japanese children prior to the introduction of 7-Valent pneumococcal conjugate vaccine. Japanese Journal of Infectious Diseases, 64: 341-344.

学会発表

1. **Bin Chang**, Mitsuaki Hosoya, Shin-Ichi Toyabe, Naruhiko Ishiwada, Takashi Nakano, Megumi Oda, Akihito Maeda, Kenji Okada, Junichiro Nishi, Hideki Akeda, Hitoshi Kamiya, Akihito Wada. 2011. Surveillance of pneumococcal invasive disease in Japanese children before and after introduction of seven-valent pneumococcal conjugate vaccine.

(The international Union of Microbiological Society 2011, Sapporo Sep. 2011) .

2. 金高太一、成相昭吉、常彬、和田昭仁。2011 年。5 日齢新生児および 1 ヶ月齢乳児における上咽頭保菌調査。(第 60 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会。山形、2011 年 10 月)。

3. Yoshiko Takahashi, Junko Oikawa, Junko Tanaka, Haruka Hishiki, Naruhiko Ishiwada, Bin Chang, and Akihito Wada. 2011. The serotypes distribution for

Streptococcus pneumoniae isolated from pediatric respiratory specimens after introduction of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in Japan. (US-Japan Cooperative Medical Science Program Acute Respiratory Infections Panel, 14th Annual Meeting, Japan, Nov. 2011).

4. 芦莉圭一、藤本夕季、金高太一、成相昭吉、常彬、和田昭仁、諸角美由紀、千葉菜穂子、生方公子。2011年。新生児仮死にて入院となった血清型 11A/E による新生児肺炎球菌感染症の 1 例。(第 54 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 59 回日本化学療法学会西日本支部総会合同学会。奈良、2011 年 11 月)。

5. 藤本夕季、芦莉圭一、金高太一、成相昭吉、常彬、和田昭仁。2011 年。血清型 15A による重症肺炎球菌感染症 2 回繰り返した重症心身障害の 14 歳女兒。(第 54 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 59 回日本化学療法学会西日本支部総会合同学会。奈良、2011 年 11 月)。

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

健常人から分離された基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌の分子疫学的解析に関する研究

研究協力者 川村 久美子（名古屋大学医学部保健学科 検査技術科学専攻 微生物学）

研究要旨 近年、市中感染症の起因菌として基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)産生菌の分離頻度が高くなりつつある。本研究ではその要因の一旦を明らかにすべく、一般健常人における ESBL 産生菌の保菌調査を行なうとともに、検出された菌の分子疫学的解析を行なった。重複除く 2,563 名 (男性 1,050/女性 1,513)を対象に調査した結果、123 名 (4.8%)(男性 62/女性 61)から合計 150 株 (大腸菌 145 株)の ESBL 産生菌を検出した。ESBL 産生大腸菌の O 血清型別では O25 (27 株)が最も多く、次いで O1 (11 株)であった。ESBL 関連遺伝子は CTX-M 型のみ(52.4%)、CTX-M 型+TEM 型(40.0%)で全体の 9 割を占め、その型は CTX-M-14(44.9%)、-15(18.8%)、-2(13.8%)、27 型(13.8%)であった。このうち、CTX-M-27 型の 84.2%が血清型 O25 で、全株がフルオロキノロン系抗菌薬耐性を示した。また、長期間(6-8 ヶ月)連続して ESBL 産生菌が検出される事例が 12 例あり、その多くが血清型 O25 および O1 の大腸菌であった。本研究で健常人の腸管内における ESBL 産生菌の保菌状況を明らかにする事ができ、市中における本菌の拡散ルートの予測および蔓延防止対策への貢献が期待される。

共同研究者

中根 邦彦（名古屋大学大学院医学系研究科）

キノロン系抗菌薬およびセフトラジジムに耐性を示した。また、長期間(6-8 ヶ月)連続して ESBL 産生菌が検出される事例が 12 例あり、その多くが血清型 O25 および O1 の大腸菌であった。

A. 研究目的

一般健常人における基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL)産生菌の保菌状況を調査し、検出された菌の分子疫学的特徴を把握すること

D. 考察

健常人の約 5%から ESBL 産生菌が検出され、それら菌株の O 血清型や遺伝子型は、尿路感染症や血流感染症の起因菌と一致していた。これらの結果は、市中から医療環境への ESBL 産生菌の持ち込みを示唆している。また、日常抗菌薬に曝露されていない健常人が半年近く ESBL 産生菌を持続して保菌していた事例もあり、薬剤耐性菌が腸内細菌叢の一部を構成している可能性が示唆された。

B. 研究方法

本研究は名古屋大学医学部倫理審査委員会の承認後、協力者には提出された糞便の残りをを用いるので新たな負担は生じないことなどを説明し、同意を得て実施した。2010 年 1 月から同年 8 月までに岡崎市保健所に提出された重複除く 2,563 名(男性 1,050/女性 1,513)の糞便を対象にした。糞便をセフトキシム含有培地に接種し得られた菌株について、菌名同定、ESBL 産生性の確認、遺伝子型別、O 抗原型別、PFGE、薬剤感受性試験を実施した。

E. 結論

健常人の腸管内における ESBL 産生菌の保菌状況が明らかとなった。今後は市中から医療環境への ESBL 産生菌の持ち込み、その拡散を防止する手段を講じる必要があるものと思われる。

B. 研究結果

2,563 件を対象に調査した結果、123 名(4.8%)(男性 62/女性 61)から合計 150 株 (大腸菌 145 株)の ESBL 産生菌を検出した。ESBL 産生大腸菌の O 血清型別では O25 (27 株)が最も多く、次いで O1 (11 株)であった。ESBL 関連遺伝子型は CTX-M 型のみ(52.4%)、CTX-M 型+TEM 型(40.0%)で全体の 9 割を占め、その内訳は CTX-M-14(44.9%)、-15(18.8%)、-2(13.8%)、27 型(13.8%)であった。このうち、CTX-M-27 型の 84.2%が血清型 O25 で、フルオロ

F. 健康危機情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表なし
2. 学会発表
第 48 回日本細菌学会中部支部総会
第 23 回日本臨床微生物学会総会

3. その他

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録

厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業検査部門の2010年精度管理から判明した疑義データの検討

研究協力者 山岸拓也

(国立感染症研究所 細菌第二部、院内感染対策サーベイランス担当官)

研究要旨

細菌検査に関わる全データを収集する院内感染対策サーベイランス事業検査部門では、検査システムから直接 JANIS のデータフォーマットに変換されたデータが提出されるため、真偽が疑わしい報告が含まれる。そのため精度管理が特に重要である。2010 年の年報集計のための精度管理ではバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌等これまで国内で報告されていない耐性菌の報告、年間を通じて大腸菌の分離報告無し、検体提出無しを疑義データとし、該当医療機関に対しその真偽を確認した。その結果、1 年分のデータを提出していた 534 医療機関の中で 97 医療機関から 218 件の疑義データを認めた。問い合わせに回答が得られた 145 件（問い合わせの 66.5%）のうち、正しい報告と確認されたものは無く、誤報告が 110 件（得られた回答の 75.9%）、不明が 35 件であった。誤報告の内訳は、薬剤感受性判定の誤り 37（「誤り」の 33.6%）、他の菌の混入 19（同 17.3%）、入力・設定の誤り 54（同 49.1%）であった。不明の中には昔のデータのため確認不可という回答が多かった。疑義データが報告される理由は半数が入力や設定ミスであり、これは事務局側の依頼で修正可能である。そのため 2011 年からは還元情報の発信やエラー表示方法を改善した。

共同研究者

網中真由美 (国立感染症研究所細菌第二部)

鈴木里和 (同)

VCM)・リネゾリド (Linezolid : LZD) 非感性肺炎球菌は外来での検出が多いことから、どちらも入院検体と外来検体から検出された菌株を対象にした。

疑義データの確認方法：まず該当医療機関のサーベイランス担当者にメールでその真偽を尋ねた。問い合わせメールに対する回答の締め切りを 4 週間後に設け、回答がない場合は担当者または責任者に電話で確認を行った。該当疑義データが誤りであった場合その理由も確認し、その結果を「感受性結果の判定間違い」、「菌同定の誤り」、「他の菌の混入」、「システム設定・入力の誤り」の 4 つに分類した。該当データの確認ができないとの回答は「不明」とした。また、メールや電話の問い合わせに回答がないものは「回答なし」とした。

倫理面への配慮

統計法に基づき収集されたサーベイランスデータの精度管理に関する研究のため倫理的な問題はなし

A. 研究目的

院内感染対策サーベイランス事業 (Japan Nosocomial Infections Surveillance : JANIS) では年報の集計前に医療機関から提出されたデータの真偽を確認する精度管理を行っている。今回、より精度の高いサーベイランスデータを収集するため、2010 年年報集計のための精度管理結果から、疑義データの内容と誤っていた場合の理由を検討した。

B. 研究方法

JANIS 検査部門年報集計のための精度管理

対象：2011 年 2 月 25 日の時点で JANIS 検査部門に参加していた 605 医療機関のうち 2010 年 12 カ月分の全データが提出されていた医療機関のデータを対象とした。

疑義データ基準：2010 年の精度管理では表 1 に示すように 3 つの基準を設けた。基準 1 の「国内で報告がない薬剤耐性菌」はバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌 (Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: VRSA) 等 4 菌種を取り上げた。本精度管理は JANIS の集計対象としている、検査方法が微量液体希釈法または Etest として報告されている入院検体からの菌株に対し行った。しかし、VRSA は疫学的に極めて重要であることから、そしてバンコマイシン (Vancomycin :

C. 研究結果

2010 年 12 カ月分のデータ提出があった 534 医療機関からのデータ (分離菌数 4,833,806) が調査の対象になり、97 医療機関からの 218 件が疑義データに該当した (表 2)。疑義基準 1 の「国内で報告がない薬剤耐性菌」がほぼ全件を占める 217 件であった。菌種別にみると、VRSA は 11 件で、そのうち外来からの検出が 5 件であった。これら VRSA は 10 医療機関から報告されていた。また、VCM・LZD 非感性肺炎球菌が 163 件と最も多かったが、件数に比べ医療機関数が少なく、比較的

少数の医療機関報告していた。疑義基準 2 の「年間を通じて大腸菌の報告なし」は 1 件が該当し、基準 3 の「年間を通じて検体提出なし」に該当するデータはなかった。

これら 218 件に対して問い合わせを行った結果は、145 件 (66.5%) から回答を得られ、残り 73 件 (33.5%) 件では回答が得られなかった。

回答が得られた 145 件中、110 件 (得られた回答の 75.9%) が「誤り」であった。「誤り」であった 110 件を理由別にみると、「システム設定・入力」の誤り 54 件 (「誤り」であった理由の 49.1%)、「感受性結果の判定間違い」が 37 件 (同 33.6%)、「他の菌の混入」が 19 件 (同 17.3%) で「菌同定の誤り」は 0 件であった。

回答が得られたものの理由が「不明」のものが 145 件中 35 件 (得られた回答の 24.1%) で、確認すべきデータが数か月前のものであるため、菌株が廃棄されており再検できないという理由が多数認められた。

なお、11 件の VRSA 報告に対する問い合わせに対しては 6 件について回答が得られ、「システム設定・入力の誤り」が 5 件 (ダミーデータの削除忘れ、再検後の未修正) と「感受性結果の判定間違い」が 1 件 (夜間救急の時間帯の不慣れな判定) であった。残る 5 件については回答が得られなかった。

D. 考察

疑義データの中で医療機関から回答があった 145 件中、「正しい」と確認されたデータは無かった。これは 2010 年の疑義データ基準が誤報告を検出する目的として特異度の高いものであったことを示しているが、一方でその感度については十分であったとは言い切れない。今回疑義データ基準 1 の対象にした 4 つの菌は国内で報告がなく確認するに値する耐性菌であるが、他にも国内で比較的報告が稀でかつ院内感染対策上重要な薬剤耐性菌であるバンコマイシン耐性腸球菌や多剤耐性アシネトバクター等も確認していく価値があるかもしれない。今後日本の薬剤耐性菌の現状も踏まえ、精度管理の対象とすべき耐性菌を検討する必要がある。

「誤り」と確認された疑義データ 110 件の内、約半数に当たる 56 件が細菌検査の技術的な誤りであり、その結果は医療機関内でも検体を提出した医師などにそのまま報告されていた可能性が高い。細菌検査の精度管理に関しては、日本臨床衛生検査技師会¹や各都道府県臨床検査技師会²が主催している細菌検査の外部精度管理や米国病理学会による国際臨床検査成績評価プログラムが行われている。日本臨床衛生検査技師会の外部精度管理は年々参加施設が増加しており、今後より多くの医療機関がこれら外部精度管理を

うけていくものと考えられ、各医療機関での細菌検査の精度向上が期待できる。

入力・設定ミスの場合は、JANIS 側にデータを提出する際に間違っただけのデータが送られていたものであった。検査部門は、細菌培養に関わる検査結果を検査システムから直接 JANIS 検査部門データフォーマットに変換し、そのまま提出する仕組みをとっている。一度設定すると後は自動的に提出できるため、その後は比較的容易にデータが提出できるが、一方で最初に JANIS のデータフォーマットへの変換を誤った場合、その誤りが修正されにくいという性質がある。これらの入力・設定ミスは「誤り」の半数を占めていたが、データ提出時に何らかの注意喚起を行う事で有効に減らせる可能性がある。

疑義データを問い合わせた時点では、そのデータが数か月以上前のもので、確認不可能であったものが多くみられた。これは年報を集計するための精度管理が年 1 回のみであるためと考えられる。JANIS 検査部門では毎月データを提出する事になっており、データ提出時の迅速な疑義の確認を行うことで、疑義の内容が「不明」となるデータを減らす事が可能と考えられる。2011 年 2 月 1 日から疑義データ基準 1 については、該当するデータが提出された直後に担当者と責任者に警告メールが送信されるシステムを稼働しており、これらの菌株の報告数は減少してきている (図 2)。

問い合わせをした疑義データ 218 件中、73 件 (33.5%) は事務局からの連絡が困難であり、かつ最終的に確認が取れなかった。JANIS では担当者と責任者の電話番号とメールアドレスの登録を求めているが、メールアドレスは異動や誤記等で利用できないものが全体の 2 割程度を占めている。多施設でのサーベイランスでは、集計側とデータ提出側とが確実に連絡が取り合える体制構築が重要であることが再確認された。

E. 結論

疑義データが報告される理由は半数が入力や設定ミスであり、これは事務局側の依頼で修正可能である。一方で、約半数は細菌検査の技術的な誤りあり、今後日本臨床衛生検査技師会など協力し、医療機関における細菌検査自体の精度を高めていくことがより高い精度のサーベイランスデータ収集に繋がると考えられる

G. 研究発表

学会発表

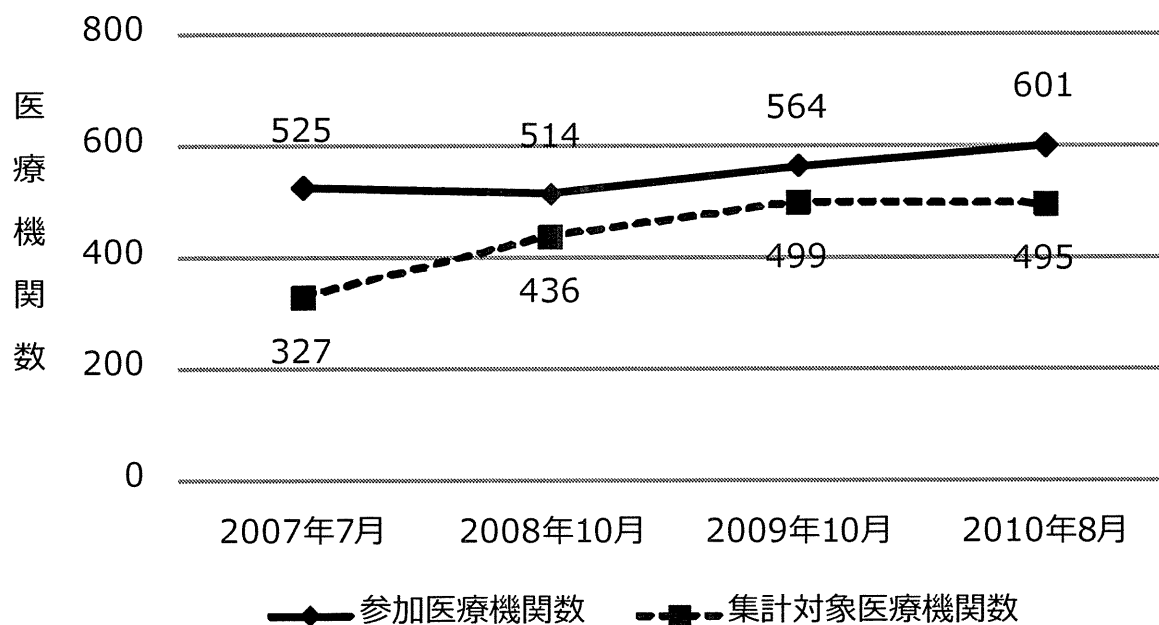
山岸拓也、網中眞由美、鈴木里和、柴山恵吾、荒川宣親。JANIS 検査部門の 2010 年精度管理から判明した疑義データの検討。第 27 会日本環境感染学会 2012 年 2 月 3 日福岡

制御部門（微生物）. 岡山医学検査 2011;48 :
19-22.

文献

1. 犬塚和久：微生物検査の外部精度管理
NEQASと地域EQAとの融合 日本臨床衛生検査
技師会の全国サーベイ改善に向けて. 臨床病理
2005;53:310-4
2. 大森章恵、藤井寛之、堀雅子、河口豊、石松
昌己、西村恵子、他：22年度精度管理報告 感染

図1 JANIS検査部門参加医療機関数と集計対象医療機関数の推移、2007-2010



参加医療機関のうち、12 カ月分のデータ提出がそろっていない医療機関と疑義が晴れないデータを含んでいた医療機関のデータは年報の集計対象から除外

表 1 JANIS 検査部門 2010 年年報集計のための精度管理における疑義データ基準

疑義データ基準		
基準 1. 国内で報告がない薬剤耐性菌*		
<i>Staphylococcus aureus</i> [†]	Vancomycin	MIC \geq 16 μ g/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i> [‡]	PenicillinG	MIC \geq 0.12 μ g/ml
	Ampicillin	MIC \geq 0.25 μ g/ml
	Vancomycin	MIC \geq 1 μ g/ml
	Linezolid	MIC \geq 2 μ g/ml
<i>Streptococcus agalactiae</i> [‡]	Vancomycin	MIC \geq 1 μ g/ml
	Linezolid	MIC \geq 2 μ g/ml
<i>Streptococcus pneumoniae</i> [†]	Vancomycin	MIC \geq 1 μ g/ml
	Linezolid	MIC \geq 2 μ g/ml
基準 2. 12 カ月で大腸菌の報告なし		
基準 3. 12 カ月で検体提出なし		

*微量液体希釈法と Etest で検査され、MIC 値が報告された菌のみが対象で、感受性の判定は CLSI2007 (Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 17th informational supplement M100-S17. CLSI 2007, Wayne, PA) に準拠

[†] 外来検体と入院検体からの菌株

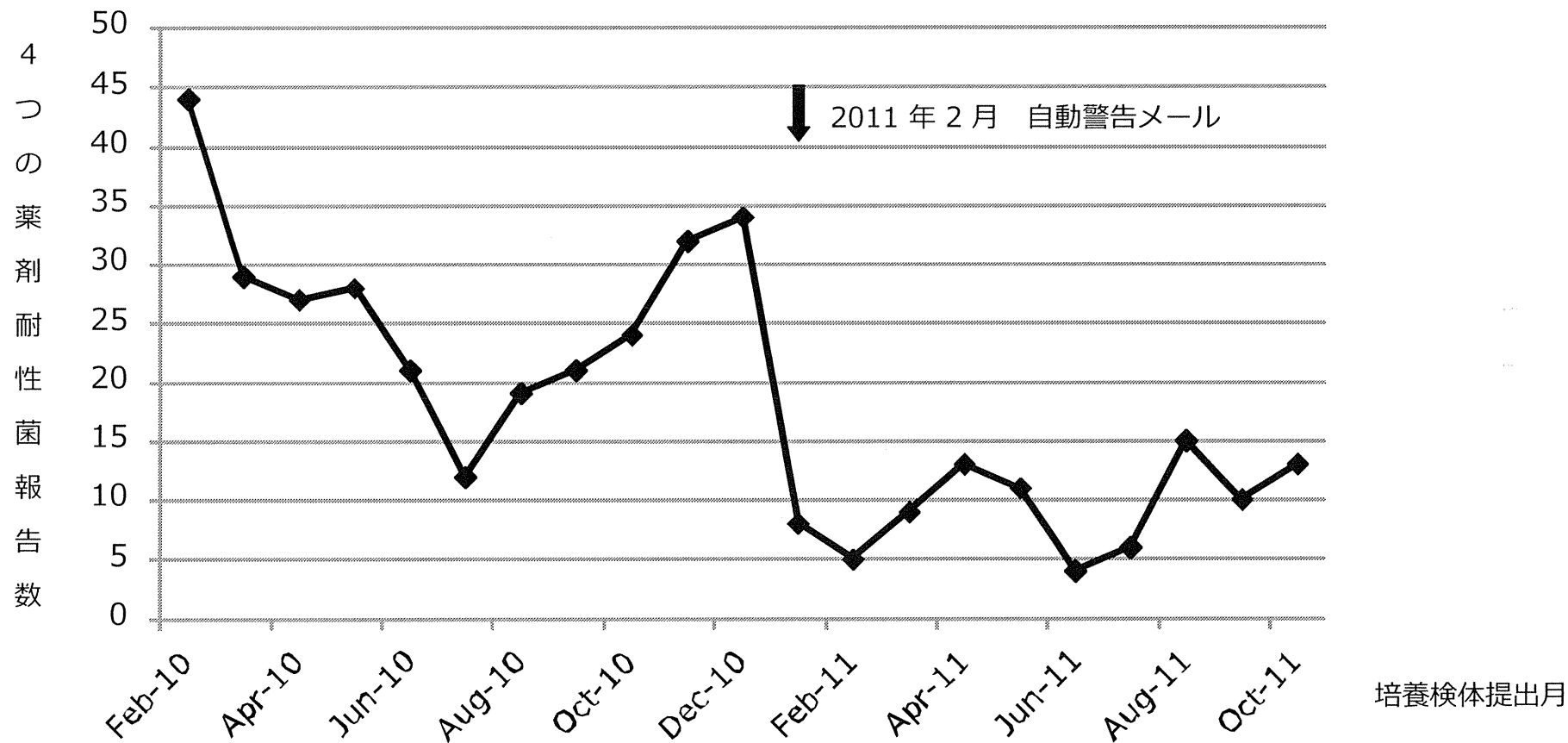
[‡] 入院検体からの菌株

表2 JANIS 検査部門 2010 年年報集計のための精度管理における疑義データ問い合わせ結果

疑義の項目	該当医療 機関数	正	誤				不明	回答 なし	合計
			入力設定	感受性	混入	同定			
基準 1. 国内で報告がない薬剤耐性菌									
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	0	5	1	0	0	0	5	11
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19	0	6	3	1	0	4	5	19
<i>Streptococcus agalactiae</i>	22	0	2	4	1	0	8	9	24
<i>Streptococcus pneumonia</i>	67	0	40	29	17	0	23	54	163
基準 2. 大腸菌の報告なし	1	0	1	0	0	0	0	0	1
基準 3. 検体なし	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	119*	0	54	37	19	0	35	73	218

*重複を除くと 97 医療機関

図2 国内で報告がない4つの薬剤耐性菌（疑義基準1）の報告数、2010年1月~2011年10月



厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業
全入院患者部門における データ提出状況と病床数、
サーベイランス担当者の職種の関係についての検討

研究協力者 網中 眞由美

（国立感染症研究所細菌第二部、院内感染対策サーベイランス担当官）

研究要旨

厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）全入院患者部門のデータ提出状況と病床数、サーベイランス担当者の職種の関係について2010年2月の時点で全入院患者部門参加登録していた医療機関455施設を対象として検討した。

参加医療機関の病床規模割合は、199床以下0.4%、200～399床50.1%、400～599床28.1%、600～799床12.3%、800～999床3.5%、1000床以上2.2%であった。サーベイランス担当者は臨床検査技師（37.6%）と看護師（28.1%）で全体の半数以上を占めた。提出期限内に12か月分のデータを提出したのは228施設（50.1%）であった。データ提出の有無と病床数の間には関連は認めなかったが、サーベイランス担当者が臨床検査技師の場合、他の職種に比べてデータ提出が有意に高いことが明らかになった。

全入院患者部門は薬剤耐性菌感染症サーベイランスであり、患者発見のきっかけとなる微生物検査にかかわる臨床検査技師がキーパーソンとなることが示唆された。その上で全入院患者部門におけるサーベイランスシステム構築には、検査技師をはじめ組織的に多職種が連携していく必要があると考える。

共同研究者

山岸 拓也 国立感染症研究所細菌第二部
鈴木 里和 （同上）

報のダウンロード率を用い、病床数およびサーベイランス担当者の職種の関係について検討を行った。

B. 研究方法

2010年2月時点でJANIS全入院患者部門に参加していた455医療機関を対象とした。

病床数とサーベイランス担当者の職種は、医療機関の届け出に基づいて作成されたJANISデータベースの登録情報を用いた。データ提出状況は、「期限内」と「督促後」の2つのポイントを設定した。「期限内」は定期の提出期限である2011年1月17日とし、「督促後」はデータ未提出医療機関に対して設けた猶予期限である2011年2月28日とした。

C. 研究結果

2010年にJANIS全入院患者部門に参加した医療機関の病床数は、199床以下：2医療機関（0.4%）、200～399床：232医療機関（50.1%）、400～599床：128医療機関（28.1%）、600～799床：56医療機関（12.3%）、800～999床：16医療機関（3.5%）、1000床以上：10医療機関（2.2%）であった（図1）。

サーベイランス担当者は医師42名（9.2%）、看護師128名（28.1%）、感染・安全担当者19名（4.2%）、臨床検査技師171名（37.6%）、薬剤師34名（7.5%）、放射線技師1名（0.2%）、

A. 研究目的

厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業全入院患者部門は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌（VRSA）、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）、多剤耐性緑膿菌（MDRP）、ペニシリン耐性肺炎球菌（PRSP）、多剤耐性アシネトバクター（MDRA）による感染症の発生率・罹患率を明らかにすることを目的とするサーベイランスである。上記5つの薬剤耐性菌による感染症と判定された患者のみを報告し、保菌患者は報告対象にはならない。

JANISでは、多くの医療機関から継続的にデータ提出を受けることが必要であるが、参加医療機関のサーベイランス体制は医療機関ごとにさまざまであり、継続したデータ提出が出来ていない医療機関も散見される。

本研究では参加医療機関のサーベイランス実施体制の指標として、データ提出状況と還元情

事務員 33 名 (7.3%)、不明 27 名 (5.9%) であった (図 2)。

データ提出状況は、「期限内」に 12 カ月分すべてのデータを提出したのは、228 医療機関 (50.1%) であり、227 医療機関 (49.9%) は未提出の月が 1 回以上あった。「督促後」では 356 医療機関 (78.2%) であった (図 3)。

「期限内」にデータを提出した医療機関の病床規模範囲は 136 床～1494 床、未提出の医療機関は 200 床～1167 床で病床規模によるデータ提出状況の違いは認めなかった ($p=0.45$)。また「督促後」でも病床規模によるデータ提出状況に違いは認めなかった ($p=0.98$) (図 4)。

サーベイランス担当者の職種別データ提出状況は、医師 ($n=42$) : 39.1%、看護師 ($n=128$) : 49.2%、感染・安全担当者 ($n=19$) : 42.1%、臨床検査技師 ($n=171$) : 62.6%、薬剤師・放射線技師 ($n=35$) : 34.3%、事務員 ($n=33$) : 54.5%が「期限内」に提出し (図 5)、「督促後」では、医師 : 76.2%、看護師 : 80.5%、感染・安全担当者 : 78.9%、臨床検査技師 : 86.5%、薬剤師・放射線技師 : 77.1%、事務員 : 75.8%であり、すべての職種で 70%以上の提出になった (図 6)。臨床検査技師とその他の職種で比較すると「期限内」 ($p<0.001$)、「督促後」 ($p=0.001$)とも臨床検査技師は他の職種と比べてデータ提出率が有意に高いことが明らかになった (図 7)。

「期限内」に 12 カ月分のデータを提出した 228 医療機関の還元情報ダウンロード状況は、12 カ月すべての還元情報をダウンロードした医療機関は、52 医療機関 (22.8%)、一度もダウンロードしなかったのは 45 医療機関 (19.7%) で、中央値は 4 回であった。担当者の職種別のダウンロード回数の中央値は、医師 4 回、看護師 7 回、感染・安全担当者 4 回、臨床検査技師 4 回、薬剤師・放射線技師は 1 回、事務員は 1 回であった (図 8)。

D. 考察

455 参加医療機関のうち、200～399 床の医療機関は全体の約 50%を占め、599 床までで約 78%を占めていた。

データ提出は病床規模による差はなく、医療機関の病床規模の大小はサーベイランス体制の整備状況には関係がないと考えられる。

全入院患者部門では、サーベイランス担当者は多職種にわたっているが、臨床検査技師が 37.6%と最も多くを占めていた。

データ提出状況には担当者の職種による差を認め、臨床検査技師が担当者の場合、他の職種が担当するよりも有意にデータ提出率が高

いことが明らかになった。全入院患者部門は、MRSA、VRSA、VRE、MDRP、PRSP、MDRA による感染症サーベイランスであり、医療機関内の微生物検査を把握できる立場にある臨床検査技師がサーベイランスを継続する上でキーパーソンになるのではないかと考えられた。

12 カ月分のデータを提出していても、還元情報のダウンロード率は低く、還元情報の利用促進に関する課題が示唆された。また職種別では、データ提出状況が最も高い臨床検査技師の場合、還元情報のダウンロードの中央値は 4 回に比べ、看護師では中央値 7 回と高く、データ提出状況と還元情報のダウンロード状況は一致しないことが明らかになり、サーベイランス担当者が必ずしも還元情報の利用者になるわけではない可能性があることが考えられた。

E. 結論

参加医療機関の JANIS 全入院患者部門実施体制についてデータ提出状況を指標として検討を行った結果、以下の点が明らかになった。

1. 全入院患者部門ではサーベイランス担当者は、臨床検査技師、看護師の順で多かった。
2. 病床規模によるデータ提出状況に差はなかった。
3. 全入院患者部門では担当者が臨床検査技師の場合、データ提出率は他の職種に比べて有意に高かった。
4. 12 カ月すべてのデータを提出した医療機関のうち還元情報をダウンロードしたのは、約 1/4 の医療機関であった。

以上より、全入院患者部門サーベイランスは、薬剤耐性菌感染症のサーベイランスであるため、患者発見のきっかけとなる微生物検査にかかわる臨床検査技師がサーベイランス担当の一端を担うことは、継続的なデータ提出を行う上で重要であることが示唆された。しかし、サーベイランスは、データを提出することが目的ではなく、自施設の感染対策に活かすツールとして活用されることが大切なため、臨床検査技師をはじめ、組織的に他職種が連携してサーベイランスを実施に有効に活用できる還元情報の作成が重要であると考えられた。

F. 健康危機情報 特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表

網中真由美、山岸拓也、鈴木里和、柴山恵吾、

荒川宜親．厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業 全入院患者部門におけるデータ提出状況と病床数、サーベイランス担当者の職種の関係についての検討．第 27 回日本環境感染学会総会，福岡，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

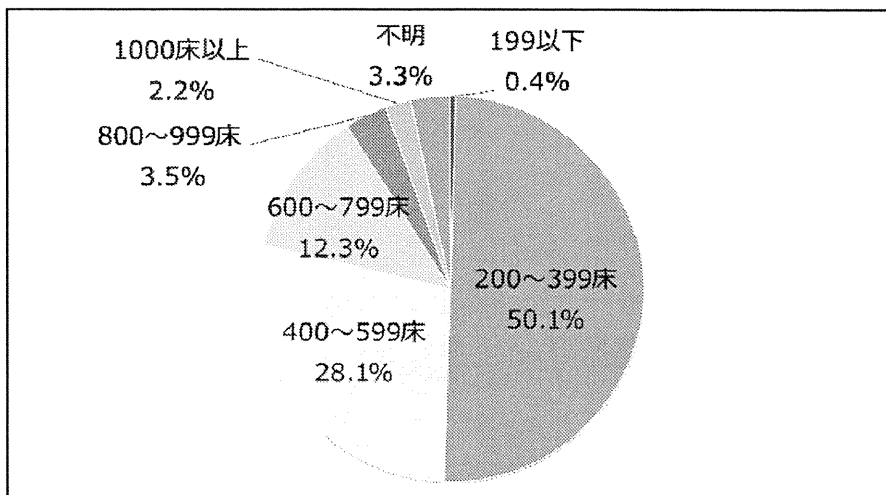


図1 2010年 全入院患者部門参加医療機関の病床数別割合 (n=455)

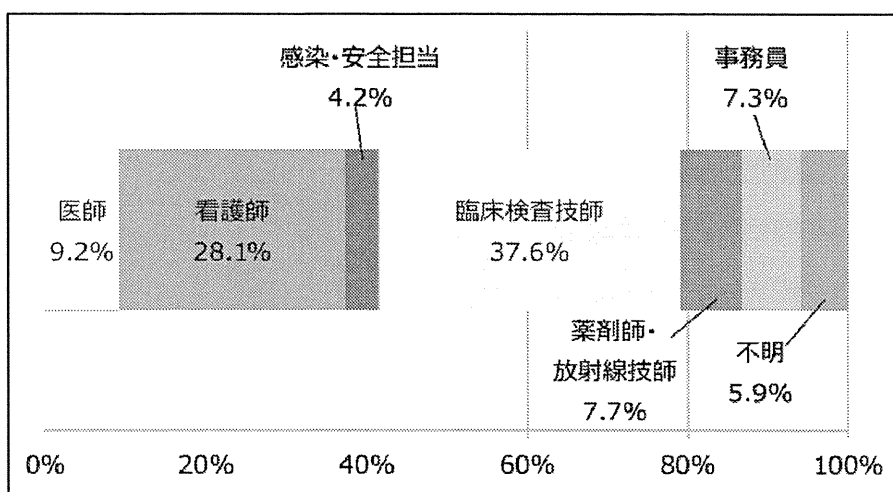


図2 2010年 全入院患者部門サーベイランス担当者の職種 (n=455)

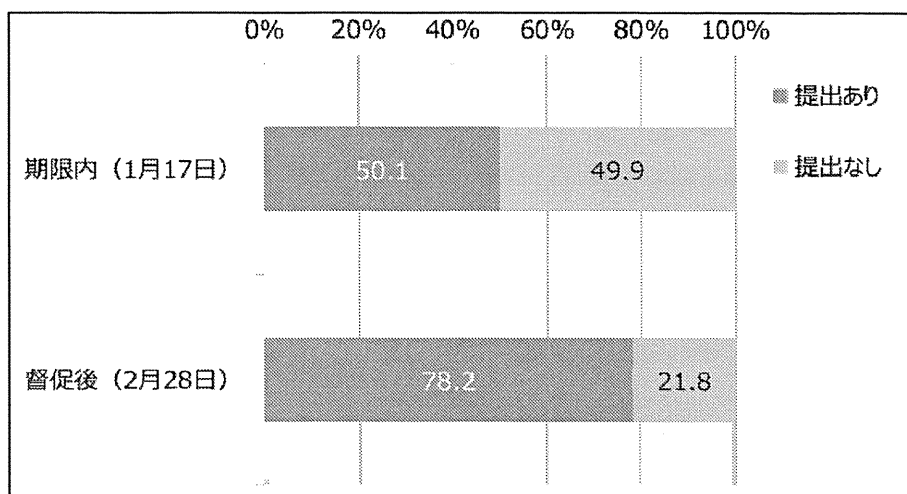


図3 2010年 全入院患者部門データ提出状況 (n=455)