

TABLE 1. Characteristics of *fosA3*-positive *E. coli* isolates and their transconjugants

Strain No.	ESBL type (parental)	Serotype ^a (parental)	ST	MIC (µg/mL) of		Resistance ^b (parental)	Inc type (parental)	ESBL type (conjugant)	Inc type (conjugant)	pMLST	MIC (µg/mL) of	
				FOM	CTX						FOM	CTX
48	CTX-M-14	O128:H-	3502	>256	128		N	CTX-M-14	N	ND ^d	>256	16
84	CTX-M-14	O29:HUT	224	>256	>256	MINO, CPEFX	II, FII, FIB	CTX-M-14	II	ST71	>256	256
558	CTX-M-55	OUT:H-	155	>256	256	CP, FLO, MINO, ST, CPEFX	FII, FIB	CTX-M-55	FII	FII:33	>256	256
559	CTX-M-14	OUT:HUT	3503	>256	128	<u>CP</u> ^c , <u>FLO</u> ^c , MINO, ST, CPEFX	II, FII, FIB	CTX-M-14	II	ST97	>256	16
608	CTX-M-3	O25:H-	3504	>256	128	GM, MINO, ST, CPEFX	FII, FIA, FIB	CTX-M-3	FII	FII:2	>256	256

^aOUT indicates O-antigen untypable and HUT indicates H-antigen untypable

^bAbbreviation: MINO, minocycline; CPEFX, ciprofloxacin; CP, chloramphenicol; FLO, florfenicol; ST, trimethoprim/sulfamethoxazole; GM, gentamicin.

^cResistance phenotype transferred to recipient cells by conjugation is underlined.

^dND, not determined. The *korA* gene of the IncN plasmid was not amplified.

Figure 1.

Distribution of fosfomycin MICs in 138 CTX-M–producing *E. coli* isolates. The white bars indicate the strains that are assigned to be susceptible on the basis of the CLSI guidelines. The gray and black bars indicate the strains that are assigned to be intermediate-resistant and resistant, respectively.

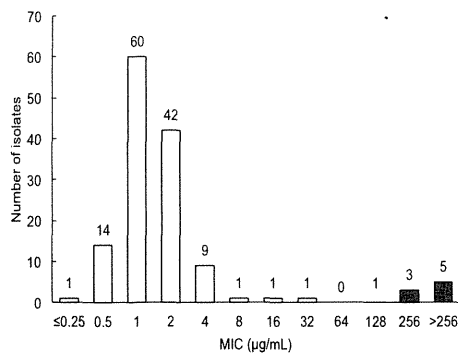
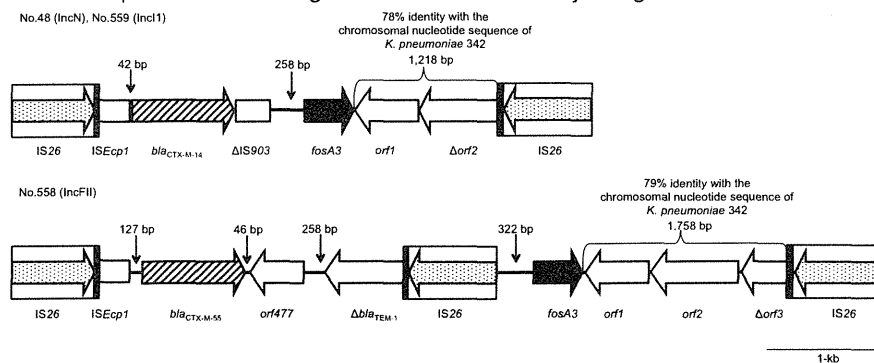


Figure 2.

Schematic representation of the genetic environment of the *fosA3* gene.



新型のグラム陰性多剤耐性菌等の分子機構の解明 （食品における基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ産生菌の 汚染状況に関する研究）

研究分担者 荒川 宜親（名古屋大学大学院医学系研究科・分子病原細菌学／耐性菌制御学・教授）
研究協力者 川村 久美子（名古屋大学大学院医学系研究科・医療技術学専攻・准教授）
後藤 謙介（名古屋大学大学院医学系研究科・医療技術学専攻・大学院生）
中根 邦彦（名古屋大学大学院医学系研究科・分子病原細菌学・院生／耐性菌制御学，
岡崎市保健所）

研究要旨：我が国では徹底した抗菌薬の適正使用が指導されてきたが、近年では抗菌薬曝露が比較的少ない健常人の市中感染症の起因菌からも耐性菌が分離されるようになり、公衆衛生の見地からも重要な問題となりつつある。これら耐性菌出現の重要な場として近年注目されているのが、動物を含めた様々な環境での菌の耐性化であり、特に、食用動物に対する抗生物質投与による耐性菌の選択とヒトへ感染の可能性が危惧されている。そこで本研究では、ESBL 産生菌による食品汚染に焦点を当て、調査・解析を実施した。153 サンプル中 35 サンプル(22.9%)から 85 株の基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生菌を検出し、そのすべてはトリ肉からの分離であった。ESBL の遺伝子型は輸入トリ肉、国産トリ肉とも CTX-M-2 型が最も多く、また輸入トリ肉由来株では CTX-M-8 型が優位であった。現在、日本の臨床分離株では CTX-M-9 group が主流を占めており、さらに接合伝達性が確認されたトリ肉株のプラスミドのレプリコンタイプも各々異なることから、今回の我々の結果は、食品由来株のヒトへの感染の可能性を否定するものであると考える。しかしながら、現時点では、食品汚染菌が可動性の薬剤耐性遺伝子の供給源となる可能性は否定できず、今後も周辺遺伝子の解析を含めた調査・解析が必要と考える。

A. 研究目的

基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生菌の分離報告は年々増加傾向にある。特に CTX-M タイプの ESBL 産生大腸菌による市中感染症の増加は 2000 年以降顕著であり、公衆衛生の見地からも重要な問題となりつつある。近年、耐性菌出現の重要な場として注目されているのが、動物を含めた様々な環境での菌の耐性化であり、特に、食用動物に対する抗生物質投与による耐性菌の選択とヒトへ感染の可能性が指摘されている。そこで本研究では、ESBL 産生菌による食品汚染に焦点を当て、調査・解析を実施した。

B. 研究方法

2010 年 1 月から同年 8 月までに 29 の異なるスーパーで購入した食品 153 サンプルを対象とした。サンプル約 10g を brilliant green lactose bile broth にて 24 時間増菌培養したのち、100 μl を cefotaxime 1 μg/ml 添加マッコンキー寒天培地に塗布し、一夜培養した。平板上に発育したコロニーについて、菌名同定を行なうとともに、double disk synergy test による ESBL 産生性のスクリーニング試験、血清型別、ESBL 関連遺伝子の検索、pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)解析および Inc type の同定を行なった。

倫理面への配慮 本研究は、名古屋大学医学部生命倫理委員会の承認を得て実施された。

C. 研究結果

153 サンプル中 35 サンプル (22.9%) から 85 株の ESBL 産生菌を検出した。ESBL 産生菌はトリ肉からのみ検出され、その分離率は輸入トリ肉の方が国産トリ肉よりやや高い傾向にあった (輸入 57.7% vs 国産 45.2%)。PFGE 解析によりクローナルな関連性がないことが判明した 53 株のうち、52 株が大腸菌、1 株が肺炎桿菌と同等された (Figure 1)。

ESBL 産生大腸菌 52 株のうち、43 株が CTX-M 型、残り 9 株が TEM-もしくは SHV-型の ESBL を産生しており、CTX-M 型では CTX-M-2 型 (22 株) が最も多く検出された。この CTX-M-2 型の割合は輸入トリ肉と国産トリ肉との間で有意差は認められなかったが、CTX-M-8 型は輸入トリ肉株で有意に高い傾向 (9 株中 8 株) にあった (Table 1)。薬剤感受性試験では cefmetazole、flomoxef、imipenem、amikacin、fosfomycin に高い感受性傾向を示したが、ceftazidime、aztreonam、minocycline に対しては耐性傾向を示していた。

今回、世界的流行株である CTX-M-15 型の O25b:H4-ST131 株は認められなかったものの CTX-M-15 型が 5 株、O25b:H4-ST131 が 4 株あり、そのうち CTX-M-15 株で 4 株、O25b 株では 2 株に接合伝達性が認められた。解析の結果、各々のプラスミドのレプリコンタイプは Inc II- γ が 4 株、Inc F、Inc P が 1 株であった (Table 2)。

D. 考察

今回の調査により、トリ肉からのみ ESBL 産生菌が検出された。このトリ肉における ESBL 産生菌の汚染率は、国内の過去の報告 (Asai et al., 2011. *Acta Vet Scand*; Hiroi et al., 2012. *J Vet Med Sci*) とほぼ一致しているが、欧州の報告 (Dhanji et al., 2010. *J Antimicrob Chemother*; Jouini et al., 2007. *J Antimicrob Chemother*) よりもやや高い傾向にあった。ESBL 型は CTX-M-2 型が輸入トリ肉、国産トリ肉とも最も多く、輸入トリ肉由来株では CTX-M-8 型が優位であった。この結果はトリ肉の輸入元を同じくするイギリスの報告 (Dhanji et al., 2010. *J Antimicrob Chemother*) と類似していたが、オランダの調査 (Overdeest et al., 2011. *Emerg Infect Dis*) とは異なるものであった。現在、日本の臨床分離株では CTX-M-9 group が主流

を占めており、今回の結果は食品由来株のヒトへの感染の可能性を否定するものであると考える。一方、オランダなど一部の国では、食品由来株と臨床分離株の ESBL 型が一致しており (Lverstein-van et al., 2011. *Clin Microbiol Infect*)、食品由来株のヒトへの感染を肯定している。この違いはトリ肉の産地や流通機構の差が影響しているかもしれない。今回、接合伝達性が確認されたプラスミドのレプリコンタイプが、臨床分離株のそれとは異なったことも、食品由来株のヒトへの感染の可能性を否定する結果であるが、本研究では可動性の遺伝子の伝播については解析しておらず、結論を出すには時期尚早といえる。今後は周辺遺伝子の解析を含めた調査が必要と考える。

E. 結論

今回の研究により、トリ肉の ESBL 産生菌汚染が明らかになった。遺伝子型やレプリコンタイプは食品由来株のヒトへの感染の可能性を否定するものであるが、食品汚染菌が可動性の薬剤耐性遺伝子の供給源となる可能性は否定できず、今後も周辺遺伝子の解析を含めた調査が必要と考える。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kawamura K., K. Goto, K. Nakane, and Y. Arakawa. Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamases and *Escherichia coli* isolated from retail foods including chicken meat in Japan. *Foodborne Pathog. Dis.* 2013 Oct 4.

2. 学会発表

1) 後藤謙介, 川村久美子, 中根邦彦, 荒川宜親. 健康人糞便由来基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌の細菌学的特徴と食品由来株との比較. 第87回日本感染症学会学術講演会. *感染症学雑誌*. 2013. 5 第87巻, 238頁

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべき物なし

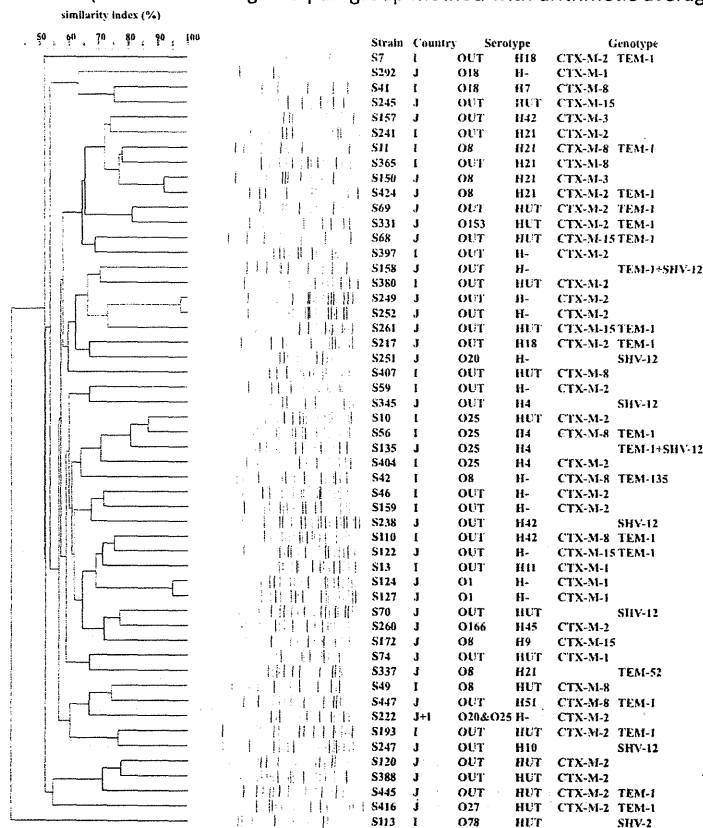
TABLE 1. BREAKDOWN OF GENOTYPES OF 52 ESBLs PRODUCED BY *E. COLI* ISOLATES

Products	CTX-M-1 group (+TEM-1) ^{a)}			CTX-M-2 (+TEM-1) ^{a)}	CTX-M-8 (+TEM-1) ^{a)}	TEM-52	SHV (+TEM-1) ^{a)}	
	CTX-M-1	CTX-M-3	CTX-M-15				SHV-12	SHV-2
Domestic products (31)	4	2	5 (3)	11 (6)	1 (1)	1	7 (2)	-
Imported products (21)	1	-	-	11 ^{b)} (2)	8 ^{c)} (3)	-	-	1
Total (52)	5	2	5 (3)	22 (8)	9 (4)	1	7 (2)	1

TABLE 2. REPLICON TYPES OF FOUR O25b ISOLATES AND FIVE CTX-M-15-PRODUCING ISOLATES

Sample number	O Serotype ^{a)}	Replicon types (patient)	Genotype of ESBL	Replicon types (transconjugant) ^{b)}
S10	O25b	II-γ, N, FIB, F, P	CTX-M-2	P
S56	O25b	II-γ, FIB, F	CTX-M-8, TEM-1	II-γ
S135	O25b	II-γ, FIB, F	TEM-1, SHV-12	ND
S404	O25b	FIB, F	CTX-M-2	ND
S68	OUT	II-γ, FIB, F	CTX-M-15, TEM-1	II-γ
S122	OUT	II-γ, FIB, F	CTX-M-15, TEM-1	II-γ
S172	O8	FIB, F	CTX-M-15	ND
S245	OUT	F	CTX-M-15	F
S261	OUT	II-γ, FIB, F	CTX-M-15, TEM-1	II-γ

FIG. 1 Dendrogram of PFGE pattern among *bla*_{CTX-M}-harbouring *E. coli* (based on unweighted pair group method with arithmetic averages cluster analysis)



新型のグラム陰性多剤耐性菌等の分子機構の解明 (メタロβ-ラクタマーゼ産生菌の検出法に関する研究)

研究分担者 荒川 宜親（名古屋大学大学院医学系研究科・分子病原細菌学／耐性菌制御学・教授）
研究協力者 川村 久美子（名古屋大学大学院医学系研究科・医療技術学専攻・准教授）
服部 達也（名古屋大学大学院医学系研究科・医療技術学専攻・大学院生）

研究要旨：これまで、Metallo-β-lactamase (MBL)産生グラム陰性桿菌の検出法として、double-disk synergy test (DDST)やEtest が常用されてきたが、CTX-M タイプの基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL) やCMY-型β-ラクタマーゼなどの複数酵素を同時に産生する菌の出現と増加により、現行法のみでは対応できなくなりつつある。本研究の目的は、MBL 単独産生菌のみならず複数酵素同時産生菌をも高率に検出する検出法ならびにその条件を見いだすことである。MBL 産生菌 24 株と非 MBL 産生菌 32 株の計 56 株を使用した。MBL 産生菌の検出法として、double-disk synergy test (DDST)、Etest MBL IP/IPI (BbioMerieux)、Cica-Beta test MBL (Kanto Chemical)、Dry-plate DPD1 test (Eiken Chemical)、Modified Hodge test の 5 種類を比較検討した。尚、DDST については、抗菌薬として ceftazidime (CAZ)、meropenem (MEPM)、imipenem (IPM)の 3 種類を、阻害剤として sodium mercaptoacetic acid (SMA)および EDTA を用い、disk 間距離を 5、10、15、20mm の 4 種類で比較検討した。結果、単独産生株では、抗菌薬 CAZ、阻害剤 SMA、disk 間距離 5mm の DDST 法が、複数酵素産生株では、抗菌薬 MEPM、阻害剤 SMA、disk 間距離 5mm の DDST 法および Dry-plate DPD1 test が最も高精度な MBL 検出法であることが明らかとなった。ただし、コスト面も考慮すると、Dry-plate DPD1 test に比し、DDST 法の方が遥かに安価で、操作法も簡便であることから、日常検査におけるスクリーニング法としては DDST 法の方が優れていると思われる。

A. 研究目的

Metallo-β-lactamase (MBL) は oxyimino cephalosporin や carbapenem を含むほとんど全てのβ-lactam系抗菌薬を加水分解する酵素であり、本酵素を産生する病原細菌の増加が治療上大きな問題となっている。これまで、MBL 産生グラム陰性桿菌の検出法として、微生物検査室では double-disk synergy test (DDST)やEtest が常用されてきたが、CTX-M タイプの基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL) やCMY-型β-ラクタマーゼなどの複数酵素を同時に産生する菌が増加しつつあり、現行法のみでは正確な検出ができなくなりつつある。本研究の目的は、MBL 単独産生菌のみならず複数酵素同時産生菌をも高率に検出する検出法ならびにその条件を見いだ

すことである。

B. 研究方法

MBL 産生菌 24 株と非 MBL 産生菌 32 株の計 56 株を使用した。MBL 産生菌の検出法として、double-disk synergy test (DDST)、Etest MBL IP/IPI (BbioMerieux)、Cica-Beta test MBL (Kanto Chemical)、Dry-plate DPD1 test (Eiken Chemical)、Modified Hodge test の 5 種類を比較検討した。尚、DDST については、抗菌薬として ceftazidime (CAZ)、meropenem (MEPM)、imipenem (IPM)の 3 種類を、阻害剤として sodium mercaptoacetic acid (SMA)および EDTA を用い、disk 間距離を 5、10、15、20mm の 4 種類で比較検討した。

C. 研究結果

1. 単独酵素産生株/DDST 法: SMA disk を用いた DDST 法においては、抗菌薬 CAZ を用いた場合が最も感度が高く、disk 間距離は 5mm で感度 100%、10、15mm では感度 95.2% であった。特異度はいずれの条件でもすべて 100% であった。一方、EDTA disk を用いた DDST 法においては、抗菌薬 IPM を用いた disk 間距離 5mm の場合が感度 81.0%、特異度 87.5% と最も良好であったが、少なからず偽陰性例および偽陽性例が認められる結果となった (Table 1)。この EDTA disk を用いた DDST 法における偽陰性例の多くは *Acinetobacter* 属菌であり (Figure 1)、偽陽性例は CMY-型 β -ラクタマーゼ産生菌であった (Figure 2)。

2. 複数酵素産生株/DDST 法: 複数酵素産生株として、NDM-1 産生株 2 株と IMP-型 MBL と CTX-M-2 型 ESBL 同時産生株 1 株を用いた。これら 3 株の複数酵素同時産生株すべてを正確に検出できた条件は、抗菌薬に MEPM を使用した disk 間距離 5mm の時のみであった。

3. 5 種類の検出法の比較: 56 株全てを対象とした場合、抗菌薬 CAZ、阻害剤 SMA、disk 間距離 5mm の条件の DDST 法と Dry-plate DPD1 test が感度 87.5% で最も良い結果を示した。特異度は DDST 法が 100%、Dry-plate DPD1 test が 96.6% と DDST 法がやや高い値になった (Table 2)。この 2 つの検出法における複数酵素産生株の検出率は DDST 法が 3 株中 0 株、Dry-plate DPD1 test が 3 株中 2 株となり、Dry-plate DPD1 test の方が正確に検出することができた。

D. 考察

DDST 法においては、阻害剤に SMA を用いた方が感度、特異度ともに高い値が得られ、これは SMA が特異的にメタロ- β -ラクタマーゼを阻害しているためと考えられた。この SMA の特異的な阻害については、和知野らの結晶解析の結果 (2013. Antimicrob Agents Chemother) がすでに裏付けている。EDTA disk を用いた DDST 法において、*Acinetobacter* 属菌で偽陰性例が多く生じた理由としては、*Acinetobacter* 属菌は EDTA それ自身に発育阻害をうけ、

EDTA disk 周りに大きな阻止円が形成されたためである (Figure 1)。おそらく、*Acinetobacter* 属菌の増殖には培地中の 2 価イオンが必要であるが、EDTA がそれらをキレートしてしまうため、増殖阻害が生じたものと考えられる。CMY-型 β -ラクタマーゼ産生菌においては、EDTA disk 周りに大きな阻止円が形成され (Figure 2)、抗菌薬との間に生じる阻止円の変化を判定し難くなったことが原因と考えられる。

複数酵素同時産生株においては、単独産生株のそれとは異なり、抗菌薬は MEPM の時が最も正確に検出できた。これは MEPM が SHV-型や CTX-M 型、CMY-型 β -ラクタマーゼによってほとんど加水分解されないためと考えられる。最終的に、単独産生株では、抗菌薬 CAZ、阻害剤 SMA、disk 間距離 5mm の DDST 法が、複数酵素産生株では、抗菌薬 MEPM、阻害剤 SMA、disk 間距離 5mm の DDST 法および Dry-plate DPD1 test が最も高精度な MBL 検出法であることが明らかとなった。ただし、コスト面も考慮すると、Dry-plate DPD1 test に比し、DDST 法の方が遥かに安価で、操作法も簡便であることから、日常検査におけるスクリーニング法としては DDST 法の方が優れていると思われる。

E. 結論

単独産生株では、抗菌薬 CAZ、阻害剤 SMA、disk 間距離 5mm の DDST 法が、複数酵素産生株では、抗菌薬 MEPM、阻害剤 SMA、disk 間距離 5mm の DDST 法および Dry-plate DPD1 test が最も高精度な MBL 検出法であることが明らかとなった。ただし、コスト面も考慮すると、Dry-plate DPD1 test に比し、DDST 法の納が遥かに安価であり、日常検査におけるスクリーニング法としては DDST 法の方が優れていると思われる。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Hattori T., Kawamura K., and Y. Arakawa. Comparison of test methods for detecting metallo- β -lactamase-

producing Gram-negative bacteria
Jpn. J. Infect. Dis. 2013 66: 512-518.

2. 学会発表

1) Kawamura K., Hattori T., Arakawa Y.
Evaluation of screening methods to
detect metallo β -lactamase-producing

Gram-negative bacteria. 第85回 日本細菌学会. 日本細菌学会誌. 2012.5 第67巻,
125頁

H. 知的財産権の出願・登録状況
特記すべきもの無し

Table 1. Summary of sensitivities and specificities of the double-disk synergy tests (DDSTs) using of SMA and EDTA disk in the phenotypic detection of IMP- or VIM-producing strains

Agents	Distance between disks (mm)	DDSTs using SMA disk ^{a)}						DDSTs using EDTA disk ^{a)}					
		MBL-producing strains (n=21)		non-MBL-producing strains (n=32)		Se (%)	Sp (%)	MBL-producing strains (n=21)		non-MBL-producing strains (n=32)		Se (%)	Sp (%)
		Positive	Negative	Positive	Negative			Positive	Negative	Positive	Negative		
CAZ	5	21	0	0	32	100	100	16	5	7	25	76.2	78.1
	10	20	1	0	32	95.2	100	11	10	0	32	52.4	100
	15	20	1	0	32	95.2	100	1	20	0	32	4.8	100
	20	5	16	0	32	23.8	100	0	21	0	32	0	100
MEPM	5	16	5	0	32	76.2	100	15	6	5	27	71.4	84.4
	10	16	5	0	32	76.2	100	3	18	1	31	14.3	96.9
	15	14	7	0	32	66.7	100	0	21	2	30	0	93.8
	20	3	18	0	32	14.3	100	0	21	2	30	0	93.8
IPM	5	18	3	0	32	85.7	100	17	4	4	28	81.0	87.5
	10	18	3	0	32	85.7	100	8	13	0	32	38.1	100
	15	17	4	0	32	81.0	100	1	20	0	32	4.8	100
	20	1	20	0	32	4.8	100	0	21	0	32	0	100

Table 2. Comparison of sensitivities and specificities of six screening test methods to detect MBL producers

Screening test methods	All strains (n=56)				IMP- or VIM-producers (n=21)	Plural classes of β -lactamases producers (n=3)	non-MBL-producers (n=32)
	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	TP:FN ^{a)}	TP:FN	FPTN ^{a)}
DDSTs (5 mm) ^{a)}	SMA-CAZ	87.5	100	100	91.4	21/0	0/32
	SMA-MEPM	79.1	100	100	100	16/5	3/0
	SMA-IPM	79.1	100	100	94.1	18/3	1/2
DDSTs (5 mm) ^{ab)}	EDTA-CAZ	70.8	78.1	70.8	92.5	16/5	1/2
	EDTA-MEPM	70.8	84.4	77.2	96.4	15/6	2/1
	EDTA-IPM	79.1	87.5	82.6	96.6	17/4	2/1
Dry-plate DPD1 test	87.5	96.9	95.4	91.2	19/2	2/1	1/31
Etest MBL IP/IP1	58.3	96.9	93.3	75.6	14/7	0/3	1/31
Cica-Beta test MBL	66.7	100	100	80.0	14/7	2/1	0/32
Modified Hodge test	70.8	100	100	82.1	16/5	1/2	0/32

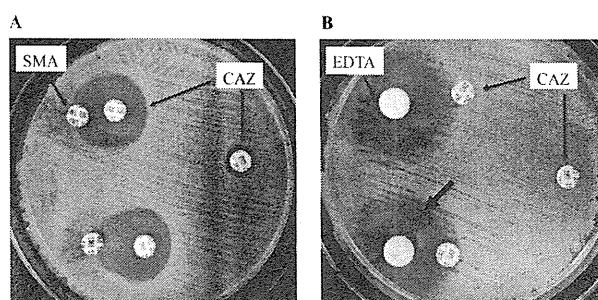


Figure 1. Appearance of growth-inhibitory zone in IMP-1-producing *Acinetobacter* sp.

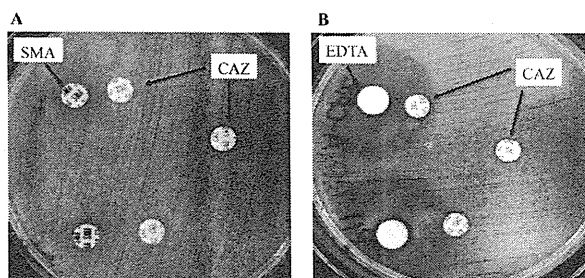


Fig. 2. Appearance of growth-inhibitory zone in CMY-producing strains.

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興研究事業研究事業）
分担研究報告書

MDRP、MRSA 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・教授)
研究協力者	鈴木匡弘	(愛知県衛生研究所・細菌研究室・主任研究員)
研究協力者	馬場尚志	(金沢医科大学・臨床感染症学・准教授)

研究要旨

本研究では、施設内感染伝播に関わる MDRP や MRSA の菌株 (danger strain) を遺伝学的に解析し、感染伝播防止対策の確立を目指す。北陸地区のサーベイランスにて収集された市中感染型 MRSA (CA-MRSA) の病原因子および遺伝子型の解析を行った。その結果、伝染性膿痂疹から検出される ETA 陽性の MRSA は、小児における主要な CA-MRSA クローンとなっていた。さらに、これらの株も含めて、全ゲノムシーケンス解析をおこなったところ、ETA 陽性 MSSA に *SCCmec* が挿入され、成立した CA-MRSA クローンであることが示唆された。

A. 研究目的

本研究では、施設内あるいは施設を超える院内感染伝播や予後不良に関わる MDRP や MRSA の菌株 (danger strain) を遺伝学的に解析し、その簡易同定法の開発および感染伝播防止対策の確立を目指す。本年度は、北陸地区の薬剤耐性菌サーベイランスにて収集した市中感染型 MRSA (CA-MRSA) の解析をすすめた。また、高頻度に検出され施設地域を超えて分離される POT 型の MRSA について、全ゲノムシーケンスを用いて解析を行った。

B. 研究方法

1) CA-MRSA 解析

1. 菌株収集

北陸地区の薬剤耐性菌サーベイランスにて外来患者分離 MRSA を収集した (約 400 株)。

2. 病原因子の解析

Panton-Valentine leukocidin (PVL)、Arginine catabolic mobile element (ACME)、Exfoliative toxin A, B (ETA, ETB)、Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) 遺伝子の PCR 法による検出を行った。

3. 菌株相同性解析

PCR-based open-reading frame typing (POT) 法を用いて菌株の相同性解析を行った。

2) 全ゲノムシーケンスによるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の解析

1. 使用菌株

POT 法で選別された臨床分離 MRSA 18 株を用いた。解析には主に外来患者から分離された菌株を用いた。内訳は NY/Japan クローン (推定 CC5) として POT 型 93-223-117 (2010 年分離 3 株、2013 年分離 3 株)、および POT 型 93-201-103 6 株 (2005 年分離 1 株、2007 年分離 2 株、2012 年分離 2 株、2013 年分離 1 株)、CA-MRSA として POT 型 70-18-81 5 株 (2007 年分離 2 株、2012 年分離 3 株、全て ST121)、POT 型 6-18-81 2003 年分離 1 株 (ST121) である。このうち POT 型 6-18-81 は 70-18-81 と近縁関係が予想される MSSA である。

2. MiSeq シークエンサーによる全ゲノムシーケンス (WGS) 解析

シーケンサーから得られたデータは Abyss (Genome Res. 19:1117-1123, 2009) にて contig を作成し、MUMer (Genome Biology, 5:R12, 2004) を用いて single nucleotide polymorphisms (SNPs) を抽出し、FastTree (PLoS ONE, 5(3):e9490, 2010) で系統樹解析し、MEGA5 (Molecular Biology and Evolution 28: 2731-2739, 2011) で系統樹の描画を行った。また得られた contig は CONTIGuator (Source Code for Biology and Medicine 6:11, 2011) を用いて Mu50 株全ゲノム

データにマッピングを行った。また参考のため、POT 型 70-18-81 のデータは Mu50 にマッピング、整列した contig に POT 型 6-18-81 を再マッピングし、比較した。

倫理面への配慮 臨床データを不可逆的に切り離した菌株のみを扱う研究であり、倫理的な問題は発生しない。

C. 研究結果

1) CA-MRSA 解析

1. 病原性因子保有株の解析

PVL 保有株は 2 株のみであった。いずれも膿検体から検出され、それぞれ POT 型は 110-16-49, 104-27-113 となった。一方 ACME 保有株は 13 株 (3.2%) あり、12 株が POT1=93 すなわち NY/Japan クローン (推定 CC5) と推測された。さらにこのうち 6 株は TSST-1 も陽性となった。POT1=93 の株のうち、TSST-1 陰性の 6 株 (93-153-127 が 2 株、93-191-103 が 4 株) は、Takano ら (AAC 57: 1589-95, 2013) が報告した ST764 クローンの可能性が示唆された。

ETA 保有株は 44 株 (10.9%) に対して、ETB 保有株は 6 株 (1.5%) にとどまった。また TSST-1 保有株は 103 株 (25.4%) に及んだ。ETA 陽性株の内 26 株が小児・新生児由来株であり、23 株が皮膚・膿検体由来であった。また小児・新生児株は POT 型 70-18-81 (推定 CC121) となった。一方 TSST-1 陽性株では 25 株が小児・新生児由来株であり、POT1=106 (推定 CC8) が 20 株と多かった。

2. 小児由来 CA-MRSA の解析

上記結果より小児由来 CA-MRSA に流行クローンの存在が示唆されたため、10 才未満の小児由来の CA-MRSA 株について更に解析をすすめた。なお、CA-MRSA の定義は、CDC の定義を用いた。この結果 62 株が対象となった。

62 株の病原性因子解析では、PVL および ACME 保有株が各 1 株 (1.6%) ずつ、ETA 保有株が 24 株 (38.7%)、ETB 保有株が 3 株 (4.8%)、TSST-1 保有株が 18 株 (29.0%) となった。

POT 解析では、POT1=70 (推定 CC121) が 30 株 (48.4%) と最も多く、次に POT1=106 (推定 CC8) が 24 株 (38.7%)、POT1=65 (推定 CC89) および

93 (推定 CC5) がそれぞれ 2 株 (3.2%) ずつとなった。

地域において集積がみられた POT 型、病原性因子の組合せは、POT 型 70-18-81, ETA 陽性が 23 株 (37.1%) と最も多かった。次に POT 型 106-9-80, TSST-1 陽性が 7 株 (11.3%) となった。POT1=106, TSST-1 陽性株は全 13 株となった (表 1)。

2) 全ゲノムシーケンスによる MRSA の解析

SNP によるデンドログラム解析の結果、すべての POT 型株において、POT 型が同一の分離株は近縁関係にあり、クラスタを形成していた (図 2, 図 3)。しかし、系統樹と分離年代に、明確な相関は認められなかった。また、Mu50 株に contig をマッピングした結果、Mu50 株と今回解析した NY/Japan クローンとの主な差異は溶原ファージと pathogenicity island であった (図 4)。また、CA-MRSA POT 型 70-18-81 の 5 株と 6-18-81 の MSSA 間の主な違いは SCC_{mec} の有無だけであった (図 5)。

D. 考察

本年度は CA-MRSA の解析を中心に行った。北陸地区のサーベイランスにて検出された菌株のうち、ACME 陽性株は 13 株あり、うち POT1=93 かつ TSST-1 陰性株については、NY/Japan クローン類似の遺伝子学的背景をもつ流行クローンである ST764 クローンの可能性が示唆された。さらに解析をすすめる予定である。

小児由来 CA-MRSA 株では、POT 型 70-18-81 (推定 CC121) ETA 陽性株が最も多く、次に POT1=106 (推定 CC8) TSST-1 陽性株が次につづいた。これらの市中流行株の遺伝子解析について、次世代シーケンスを用いた全ゲノムシーケンスによる解析を行うこととした。

全ゲノムデータを元にした SNP 解析によって、高精度の分子疫学解析が可能であった。その一方、今回の検討では SNP 抽出の正確性などの検討が不十分であることから、信頼性の検討を行う必要がある。また、ファージ構造については詳細な検討ができていないことから、ファージについてもシーケンスデータを精査し、POT 型との関係を明確にする必要がある。

CA-MRSA POT 型 70-18-81 (推定 CC121) は元々日本に存在した同じ遺伝子型の MSSA に SCC_{mec} が

挿入されて、成立したクローンと考えられた。現在では小児から分離される、伝染性膿痂疹関連 CA-MRSA としては主要なクローンとなっており、メチシリン耐性獲得が同クローンの拡散に貢献した可能性が示唆された。

E. 結論

伝染性膿痂疹から検出される ETA 陽性の MRSA は、小児における主要な CA-MRSA クローンとなっている。全ゲノムシーケンス解析により、元来 ETA 陽性 MSSA に *SCCmec* が挿入され、成立した CA-MRSA クローンであることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 鈴木匡弘、飯沼由嗣、他 臨床分離薬剤耐性緑膿菌の POT 法による分子疫学解析、第 87 回日本感染症学会総会（2013 年 6 月）横浜市
- 3) Iinuma Y, Baba H, et al. Multicenter survey of the antibiotic susceptibility of anaerobic Gram-negative bacilli in Japan. ID WEEK (Oct, 2013) San Francisco, USA
- 4) Baba H, Iinuma Y, et al. Antimicrobial resistance in Hokriku District, Possible spreading of exfoliative toxin A-positive

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan as the dominant clone of community-associated MRSA among children. ID WEEK (Oct, 2013) San Francisco, USA

- 5) 金谷和美、馬場尚志、飯沼由嗣、他 北陸地区における嫌気性グラム陰性桿菌に関するサーベイランス、第 25 回日本臨床微生物学会総会（2014 年 1 月）、名古屋市
- 6) 新川晶子、馬場尚志、飯沼由嗣、他 北陸地区における黄色ブドウ球菌及び肺炎球菌の薬剤耐性について、第 25 回日本臨床微生物学会総会（2014 年 1 月）、名古屋市
- 7) 坂上有貴子、馬場尚志、飯沼由嗣、他 北陸地区における ESBL 産生腸内細菌および薬剤耐性緑膿菌の検出状況、第 25 回日本臨床微生物学会総会（2014 年 1 月）、名古屋市
- 8) 早川恭江、鈴木匡弘、他、耐性緑膿菌に対する分子疫学解析、第 29 回日本環境感染学会総会（2014 年 2 月）東京都
- 9) 鈴木匡弘、他、薬剤耐性菌の分子疫学解析法開発、第 87 回日本細菌学会総会（2014 年 3 月）東京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定も含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他

図1 北陸地区サーベイランスによって集積がみられた POT 型を示す CA-MASA

POT型: 70-18-81 23株 (37.1%)

Hospital	Age	POT1	POT2	POT3	ETA
A	0	70	18	81	+
B	0	70	18	81	+
C	5	70	18	81	+
C	3	70	18	81	+
C	2	70	18	81	+
C	2	70	18	81	+
D	5	70	18	81	+
D	4	70	18	81	+
E	8	70	18	81	+
E	2	70	18	81	+
F	5	70	18	81	+
F	2	70	18	81	+
G	4	70	18	81	+
H	9	70	18	81	+
H	8	70	18	81	+
H	3	70	18	81	+
H	0	70	18	81	+
H	0	70	18	81	+
H	0	70	18	81	+
H	0	70	18	81	+
I	5	70	18	81	+
I	3	70	18	81	+
J	9	70	18	81	+

POT型: 106-9-80 7株 (11.3%)

Hospital	Age	POT1	POT2	POT3	TSST-1
B	2	106	9	2	+
F	1	106	9	2	+
H	0	106	9	2	+
A	0	106	9	80	+
B	1	106	9	80	+
E	0	106	9	80	+
F	1	106	9	80	+
I	0	106	9	80	+
K	3	106	9	80	+
L	4	106	9	80	+
B	0	106	9	85	
C	0	106	11	64	+
C	0	106	11	64	+
M	5	106	11	64	+
C	4	106	11	72	

ETA: exfoliative toxin A

TSST-1: toxic shock syndrome toxin-1

図2 NY/Japan クローン の系統樹解析

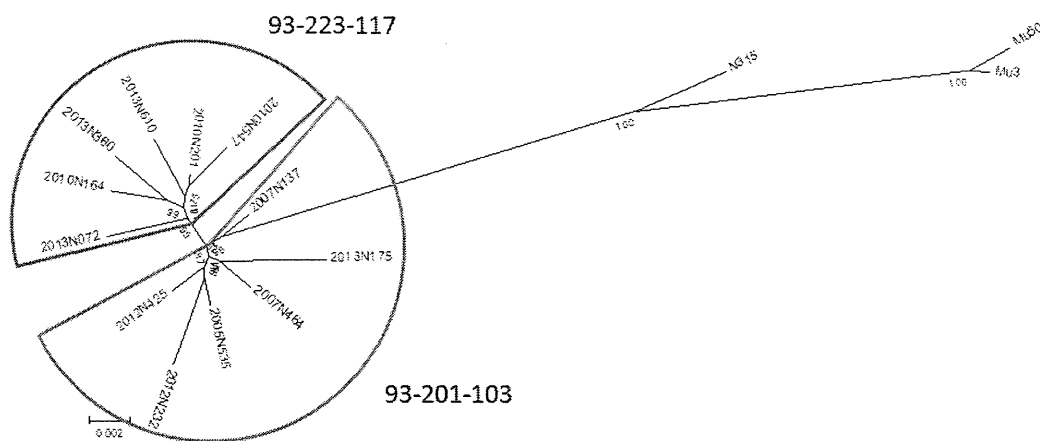


図3 ST121 市中感染クローンの系統樹解析

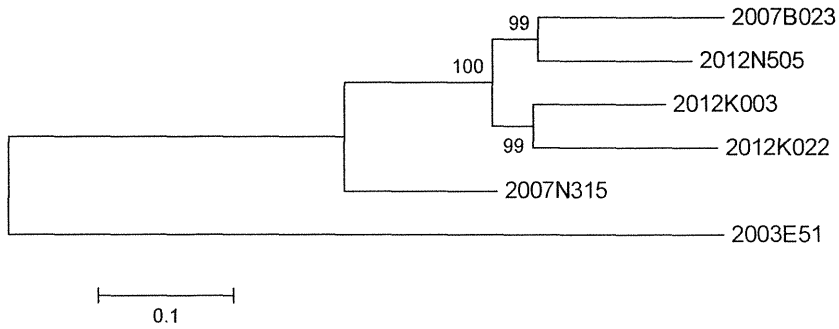
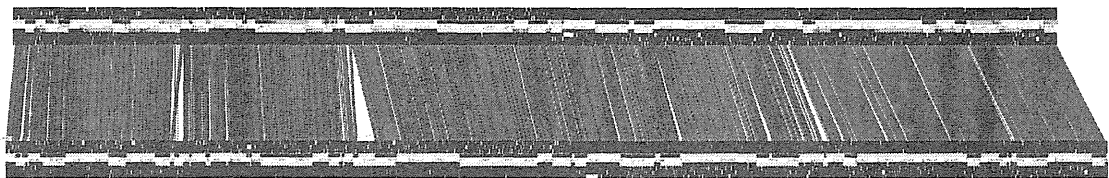


図4 NY/Japan クローン株データの Mu50 株データへのマッピング

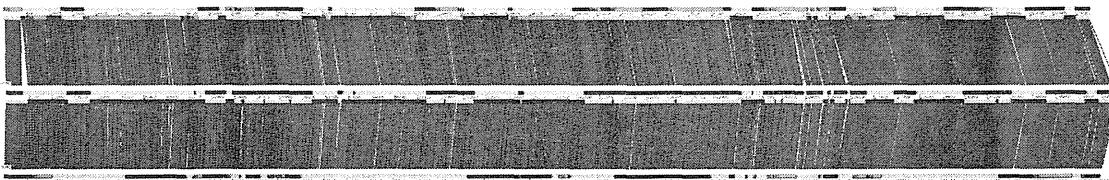
POT 型 93-201-103 (2005N535 株)



Mu50

図5 ST121 市中感染型 MRSA と ST121 MSSA の比較

POT 型 6-18-81 MSSA



POT 型 70-18-81 MRSA

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
新たな薬剤耐性菌の耐性機構の解明及び薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究班
分担研究報告書（平成 25 年度）

日本国内小児患者由来肺炎球菌の
 β -ラクタム剤耐性およびニューキノロン系抗菌薬に対する低感受性化の解析

研究分担者 大西 真 国立感染症研究所細菌第一部 部長
研究協力者 常 彬 国立感染症研究所細菌第一部 主任研究官

研究要旨

2013 年に日本国内の小児侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）由来肺炎球菌 141 株の血清型別 薬剤感受性およびシーケンスタイプピングを行った。141 症例のうち、ペニシリン G 耐性肺炎球菌（PRSP; MIC \geq 2 μ g/mL）は 16 症例（11.3%）、メロペネム耐性菌（MIC \geq 1 μ g/mL）は 2 症例（1.4%）より分離された。16 株の PRSP のうち、Sequence type（ST）320 型 19A 肺炎球菌は 9 株で最も多かった。すべての IPD 由来肺炎球菌はニューキノロン系薬 トシル酸トスフロキサシンに感受性（MIC \leq 0.12-0.5 μ g/mL）を示した。我々はペニシリン G とメロペネム耐性 IPD 由来肺炎球菌の解析を行い、耐（低感受）性のメカニズムを探索した結果を報告する。

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、2013 年 4 月 1 日から定期接種の対象となり、さらに 2013 年 11 月 1 日からは PCV7 に新たに 6 種類の血清型ポリサッカライドを加えた 13 価肺炎球菌結合型ワクチン（PCV13）に定期接種用ワクチンは変更された。肺炎球菌コンジュゲートワクチンの定期接種化による感染症の発症率の減少が期待されている。それに加えて、化学療法剤に対する低感受性/耐性肺炎球菌の分離の低下も期待されている。本分担研究は、2013 年日本国内の小児侵襲性感染症（IPD）から分離された肺炎球菌の薬剤感受性試験を行い、抗菌薬に対する感受性を調べた。さらに、 β -ラクタム剤耐性のメカニズムを解明する解析を試みた。

B. 研究方法

2013 年に、日本国内の小児 IPD から分離された肺炎球菌 141 株を対象とした。分離された肺炎球菌に対して、Statens Serum Institute 製血清を用い血清型を決定した。薬剤感受性試験は微量液体希釈法によって行った。薬剤感受性試験の結果は 2007 年までの CLSI の基準によって、ペニシリン G の MIC が \leq 0.06 μ g/mL、0.12-1 μ g/mL、 \geq 2 μ g/mL をそれぞれ、ペニシリン感受性（PSSP）、ペニシリン低感受性（PISP）、ペニシリン耐性肺炎球菌（PRSP）と判別した。マルチローカスシーケンスタイプピング（MLST）では、分離株の 7 つのアレル（*aroE*, *gdh*, *gki*, *recP*,

spi, *xpt*, *ddl*）の配列を決定し、<http://spneumoniae.mlst.net> にて検索を行い、遺伝子型を決定した。

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。

1: 2013 年小児 IPD から分離された肺炎球菌の抗菌薬に対する感受性

2013 年、141 例小児 IPD 由来肺炎球菌の中、PSSP、PISP、PRSP はそれぞれ 84 株（59.6%）、41 株（29.1%）、16 株（11.3%）であった。PISP と PRSP 57 株のうち、19A 型肺炎球菌が最も多かった（33 株、57.9%）。15A は 13 株（22.8%）が分離され、二番目に多かった。一方、PCV7 に含まれる血清型のうち、19F は 3 株（5.3%）、6B は 2 株（3.5%）のみの分離であった。残った 6 株の血清型はそれぞれ 6A、6C、15B、16F、23A、35B であった。16 株 PRSP には、ST320 型 19A 肺炎球菌は 9 株、15A 型は 4 株、19F 型は 2 株、35B 型は 1 株であった。

メロペネムに対して、120 株（85.1%）の肺炎球菌は感受性を示し、19 株（13.5%）および 2 株（1.4%）はそれぞれ低感受性と耐性を示した。メロペネム低感受性肺炎球菌の血清型は 19A（8 株）、15A（8 株）、19F（2 株）、35B（1 株）で、耐性を示す 2 株ともにシーケンスタイプ ST320 型 19A 肺炎球菌であった。

すべての小児 IPD 由来肺炎球菌はメロペネム、バンコマイシンおよびトシル酸トスフロキサシンに感受性を示した。

2:肺炎球菌のβ-ラクタム剤耐性メカニズムの解析
肺炎球菌の *pbp1a*、*pbp2b* および *pbp2x* 遺伝子の変異は本菌のβ-ラクタム剤の低感受性および耐性に関与すると言われている。しかし、この3つの遺伝子のそれぞれが肺炎球菌のβ-ラクタム剤耐性に果たす役割は不明である。肺炎球菌のβ-ラクタム剤耐性メカニズムを解明するために、我々はメロペネム耐性 PRSP、血清型 6B KSP482 株の *pbp1a*、*pbp2b* および *pbp2x* 遺伝子を別々にβ-ラクタム剤感受性を示す肺炎球菌血清型 2 型の D39 にトランスフォーメーションし、それぞれの役割を探索する計画を立てた。

本年度、我々は KSP482 の *pbp2b* 遺伝子を PCR で増幅し、野生型 D39 にトランスフォーメーションし、D39 のβ-ラクタム剤に対する MIC の変化を解析した。その結果、変異 *pbp2b* 遺伝子を有する D39 のペニシリン G に対する MIC は野生型の $\leq 0.015 \mu\text{g/mL}$ から $0.03 \mu\text{g/mL}$ 、セフトキシムに対する MIC は $\leq 0.03 \mu\text{g/mL}$ から $0.03 \mu\text{g/mL}$ 、メロペネムに対する MIC は野生型の $\leq 0.008 \mu\text{g/mL}$ から $0.06 \mu\text{g/mL}$ への上昇がみられた(図 1)。しかし、KSP482 の抗菌薬の MIC には達していなかった。今後、*pbp1a* および *pbp2x* 遺伝子をそれぞれに変異 *pbp2b* 遺伝子を有する D39 にトランスフォーメーションし、β-ラクタム剤耐性のメカニズムを解明する予定である。

D. 考察

昨年、我々は 2011 年および 2012 年の日本国内の小児 IPD から PSSP の分離率がそれぞれ 45.9% と 44.8% であったことを、本研究班の分担報告書にて報告した。2013 年の小児 IPD 由来 PSSP の分離率は 59.6% で、2011 年と 2012 年より感受性菌の分離率が高くなった。その理由としては、PCV7 の普及によりワクチンに含まれているペニシリン G に対する感受性の低い血清型 6B、23F、19F 肺炎球菌の分離率が低くなったことが考えられた。PCV7 は小児の IPD の予防効果と共に、耐性菌の減少にも重要な役割を果たした。2013 年に分離された PISP と PRSP のうち、19A 型は最も多くみられた。19A 型は 2013 年 11 月 1 日に変更された PCV13 に含まれる血清型であるため、PCV13 の普及により 19A 型肺炎球菌による IPD 症例の減少および PISP と PRSP の低下が期待される。

E. 結論

日本国内小児 IPD 由来、ペニシリン G に対する低感受性および耐性を示す肺炎球菌の分離率の低下がみられた。その一方、非ワクチンタイプの 15A 型や 35B 型肺炎球菌はペニシリン G およびメロペネムに低感受性を示しており、PCV13 普

及後の抗菌薬感受性の動向に注目した継続的な疫学研究が重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Molecular epidemiology and serogroup 6 capsular gene evolution of pneumococcal carriage in a Japanese birth cohort study. Otsuka T, Chang B, Wada A, and Okazaki M. Journal of Medical Microbiology, 62: 1868-75, 2013.

2. Changes in *Streptococcus pneumoniae* Serotypes in the Nasopharynx of Japanese Children after Inoculation with a Heptavalent Pneumococcal Conjugate Vaccine. Ueno M, Ishii Y, Tateda K, Anahara Y, Ebata A, Iida M, Mizuno F, Inamura S, Takahata K, Suzuki Y, Chang B, Wada A, Sugita M, Tanaka T, Nishiwaki Y. Japanese Journal of Infectious Diseases, 67: 40-43, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

S. pneumoniae serotype 6B

KSP482 MIC_{PCG} = 2 μg/ml, MIC_{CTX} = 2 μg/ml, MIC_{MEPM} = 1 μg/ml

PCR product of *pbp2b* KSP482

Recipient D39 (MIC_{PCG} ≤ 0.015 μg/ml, MIC_{CTX} ≤ 0.03 μg/ml, MIC_{MEPM} ≤ 0.008 μg/ml)

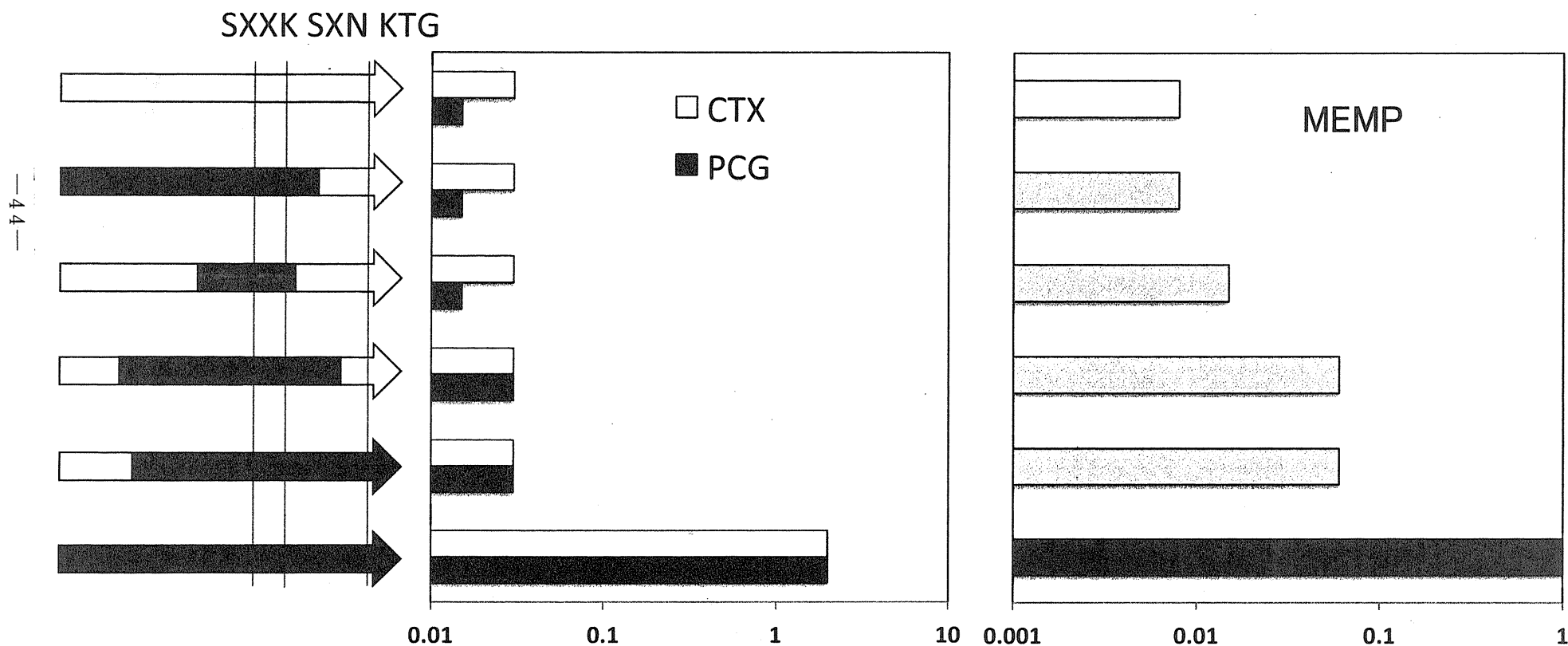


図1: *pbp2b* の肺炎球菌の β-ラクタム剤耐 (低感受) 性に果たす役割

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、前回荒川班からの引き継ぎとして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ている。まず 2012 年に 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っている。2011 年に作成した「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、全国の NICU に配布した。昨年度は未熟児新生児学会感染対策・予防接種推進室と協力して、日本新生児感染対策研究会としてホームページを開設した。ここへ上記のハンドブックや、これまでの班研究による報告書を書いた。

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 2011 年から 2012 年にかけて施行したので、その結果を 2012 年 11 月の未熟児新生児学会にて報告し、2013 年に論文化した。またこれらの施設別年別報告書の内容も具体化できたので、今回報告する。さらにこれらのアンケートデータ解析結果等に基づいて、2012 年から 13 年にかけて中部地方で発生した NICU における新生児 MRSA 感染症のアウトブレイクや NICU の一時閉鎖などに関するマスコミ対応に対して、感染対策予防接種推進室委員の方々と共に「NICU の MRSA 保菌と感染症についての見解と提言 2014」を作成し、小児科学会新生児委員会と上記推進室からの共同提言として発表する予定である。

研究協力者

高橋尚人（東京大学医学部附属病院小児科 総合周産期母子医療センター/准教授）
早川昌弘（名古屋大学医学部附属病院小児科 周産母子センター/教授・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）
吉永一彦（福岡大学医学部社会医学系総合研究室）

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を行う。次いで JANIS の NICU における感染症サーベイランス体制を改善するための方策を考える。
- 2) 2010 年-2012 年出生の極低出生体重児の NICU における感染症に関するアンケート調

査

そのデータ提出施設へのデータ還元方法として、全国データとの比較を行い、そのまとめを作成して、施設別に報告する。
3) 劇症型壊死性腸炎の発症形態とその背景因子を調べる。
増加しているといわれる劇症型壊死性腸炎のアンケート調査を行いその原因を解析する。

B. 研究方法

- 1) 2010 年から 2012 年まで毎年、NICU における新生児感染症の全国アンケート調査を行い、そのデータを解析してまとめる。一方 JANIS の NICU における経年的な新生児感染症報告データと比較して、それぞれの欠点や改善点を見つける。
- 2) 1) において集めた全国集計データと個々の施設のデータを比較して、各施設毎に返却する。このデータ作成は、研究協力者の吉永一彦先生による Excel 内でのマクロにて行われる。その報告内容を示す。
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) 全国 NICU 感染症データ収集に向けて

現在、前荒川班研究の流れで、厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) が行われている。NICU 部門もそれに参加して、年 1 回のサーベイランス報告を毎年登録されている 55~74 施設 (出生体重 1500g 未満の極低出生体重児 VLBW の総入院数は、1500~2300 人ほど) から受けて、まとめられている。しかし、その報告を簡素化して参加施設を増加させる意図のために、アンケート項目として基本 5 起炎菌種を MRSA、MSSA、CNS、緑膿菌、カンジダとしてその他と菌不明の 7 項目とし、感染症を敗血症、肺炎、皮膚炎、腸炎、髄膜炎、その他の 6 項目と限定された。そのために、感染症の発症率は判りやすいが、感染症の詳細をさらに調査するには、非常に困難となる。

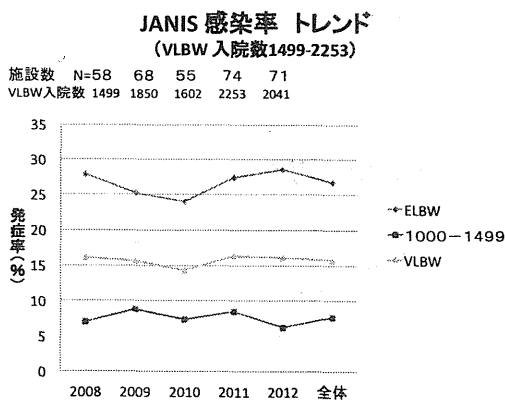
一方、未熟児新生児学会の感染対策予防接種推進室のアンケートには、毎年 110-120 施設 (VLBW の入院数 2700~3200 人) が参加している。アンケート項目数は基本起炎菌種名が 13 項目 (MRSA, MSSA, CNS, 連鎖球菌, GBS, 腸球菌, 大腸菌, 緑膿菌, エンテロバクター, クレブシエラ, セラチア, カンジダ, バチルス) にその他、菌不明で 15 項目となる。また疾患名は、血流感染、臨床的敗血症、髄膜炎、肺炎、NEC、動静脈炎、尿路感染症、皮膚感染症とその他の 9 項目となる。

この 2 つの流れの比較を行った。

A. JANIS のデータから

① VLBW 入院数と感染症発症率について

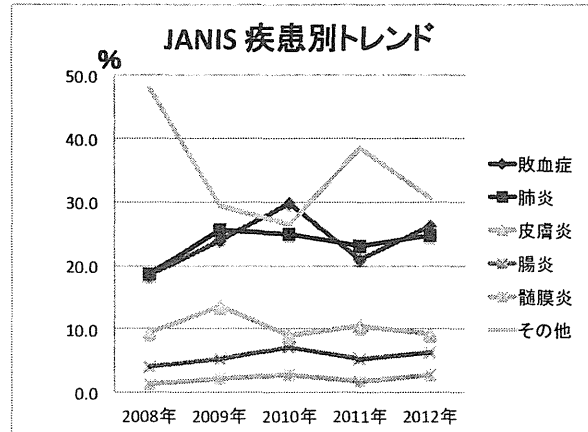
図 1 VLBW, ELBW の感染率トレンド



2008 年から 5 年間の VLBW, ELBW の感染率トレンドを示した。参加施設数は 55-74 施設であり、VLBW の感染率は各年 15% で、出生体重 1000g 未満の超低出生体重児の感染率は 25-30% で割と一定している。対象となった施設の VLBW 総入院数は 1500-2300 人程度であり、全国の出生数約 8000 人の 25% 程度を把握できている。

② 感染症疾患別の年次推移について

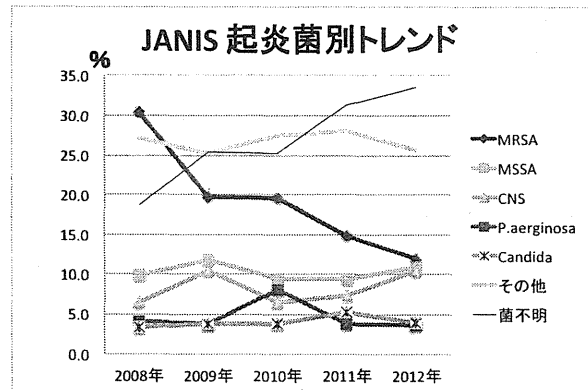
図 2. 感染症疾患別年次推移



5 年間を通じて、最も多い疾患はその他であり、敗血症、肺炎は横ばい、皮膚は減少傾向、腸炎、髄膜炎は微増の傾向にあることが判る。

③ 感染症起炎菌別の年次推移について

図 3. 起炎菌別年次推移



5 年間で、起炎菌の動向は大きく変化している。MRSA が大きく減少し、MSSA は横ばい、CNS が少し上昇傾向にある。しかし一番頻度の高いのはその他と菌不明である。

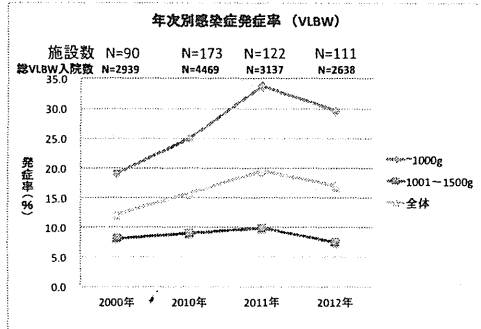
<JANIS 報告について: 小括>

1. 参加施設数は平均 65 施設 (58~74)
2. VLBW 児の把握率は平均 23% (18-28)
3. 感染症発症率は、ELBW 児で平均 26%、VLBW 児で平均 16% であり、年毎に一定している。
4. 敗血症・肺炎は 20~30% で高目横ばい、皮膚炎は 10% で横ばい、腸炎・髄膜炎は微増している。その他の疾患割合が多い。
5. MRSA が漸減し、MSSA・CNS・緑膿菌・Candida は横ばい、その他の菌や菌不明が増加している。

B. 日本新生児感染対策研究会のデータから

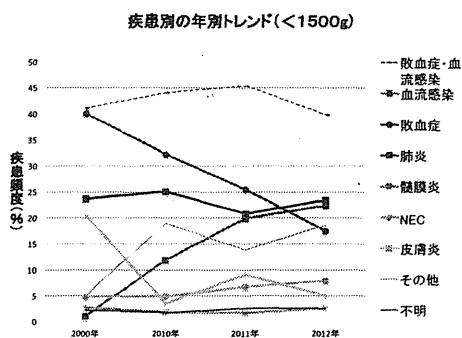
2000年の荒川班での全国集計データと2010年(VLBWのみに限定)、2011年、2012年の4つのデータの比較を行う。

① VLBW入院数と感染症発症率について
図4. VLBW,ELBWの感染率の年次推移



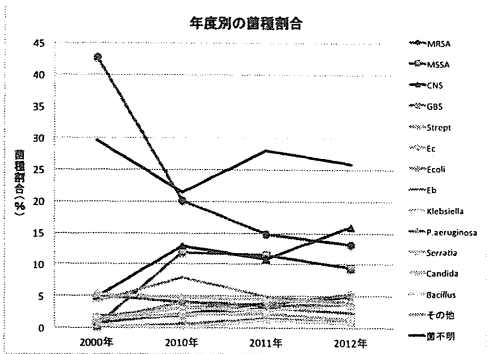
年度別に変化が大きいですが、それは参加施設数によっています。1500g未満のみのアンケートを行った2010年の参加施設が最も大きく、全症例を集めた2011年、2012年はその施設数が減少した。しかし、1001-1500gの感染率はJANISのデータと同様に、8-10%と安定している。1000g以下の感染率が2011年には30%を超えていたが、2012年にはJANISとほぼ同様になっている。対象者はVLBWの30-50%を把握している。

② 感染症疾患別の年次推移について
図5. 感染症疾患別年次推移



疾患別のトレンドをみると、敗血症が激減して血流感染が激増しているように見えるが、これは疾患の診断基準が変更されたためであると考えられる。その両者を合わせたもの(敗血症・血流感染)を破線で示したが、大きな変化はないことが判る。次いで肺炎が多く年毎の変化は少ない、その他、皮膚炎、NEC、髄膜炎、不明の順となる。

③ 感染症起炎菌別の年次推移について
図6. 起炎菌別年次推移



起炎菌別の年次推移については、最も顕著な動きがMRSAにあり、年毎に急激な減少を示している。ついで、CNSが上昇傾向、MSSAは一度上昇して低下傾向に、その他の菌群では、その他が減少傾向で、他はあまり変化がない。菌不明が25%程度で一定の傾向にある。

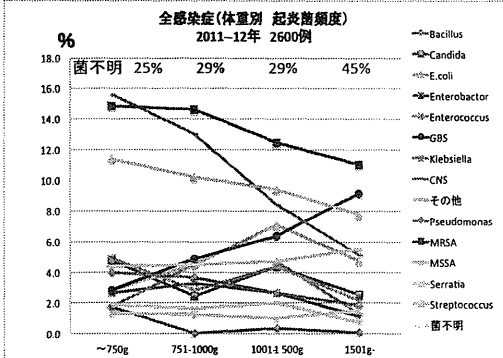
<研究会報告について : 小括>

1. 参加施設は110以上
2. VLBWの把握率は約40%以上
3. 過去3年間の感染症発症率はELBWで上下があり参加施設内容が反映している可能性あり。
4. 疾患別推移は、敗血症・血流感染を合わせると肺炎と共に高め横ばい、皮膚炎は2000年から大きく減少して横ばい、NECが微増。
5. 菌種別推移は、MRSAが2000年から大きく減少し更に減少傾向、MSSA・CNSは増加して横ばい、その他の菌は少ないが、菌不明が20%と多い。

④ 新診断基準で集計した2011-12年の結果を体重群別に起炎菌の頻度を調査

(1) 全感染症について
2011年から新感染症診断基準で調査し、さらにバチルス菌も新たに追加したため、体重群別に検討をした。

図7. 体重群別の起炎菌の頻度 (全感染症)

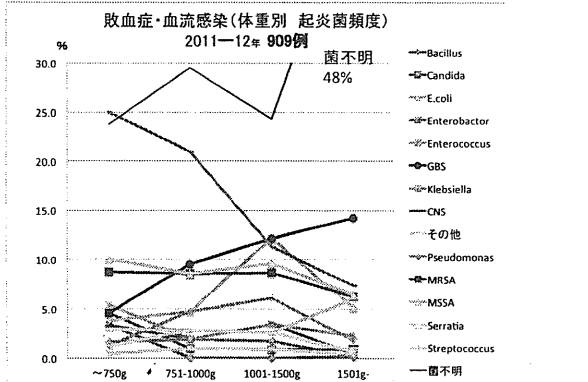


1000g以下では、MRSA・CNS・MSSAと頻度が高い。3種共に体重群が大きくなるに連れて、減少傾向にある。頻度は少ないがBacillusは750g以下の群に特異的に高い。GBSは体重群が大きくなるにつれて頻度が高くなる。E.coliは1001-1500g

の群でピークとなっている。

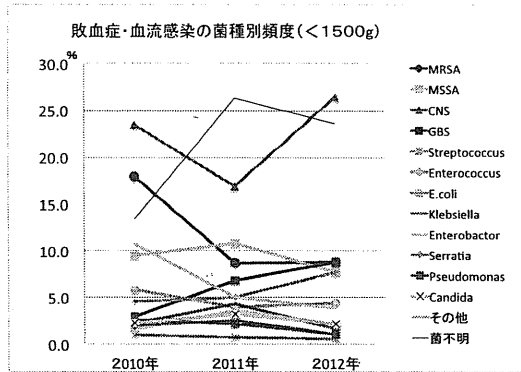
(2) 敗血症・血流感染について
敗血症と血流感染を合わせて、起炎菌の頻度を解析する。

図8. 敗血症・血流感染 (体重群別起炎菌頻度)



1000g以下の群にはCNSが著明に高く、1000gを超えると急激に低下する。MRSA・MSSAは10%程度で、全体重群に見られる。GBSは750g以上で体重が増加する毎に頻度が上昇している。E.coliは1001-1500gの群が特に高い。Bacillusは750g以下の群にしかない。

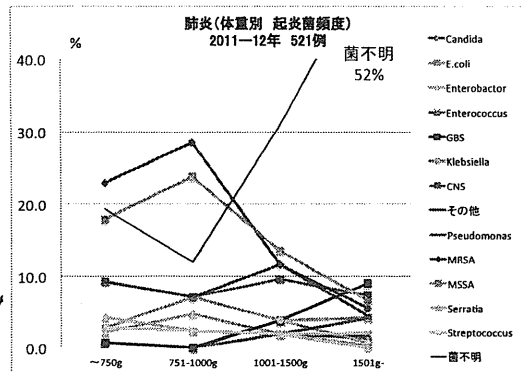
図9. VLBWにおける3年間の敗血症・血流感染の菌種トレンド



CNSが全期間最も頻度が高く、MRSAは2011以降は低下している。Enterobacterは減少傾向に、GBSは上昇傾向にある。

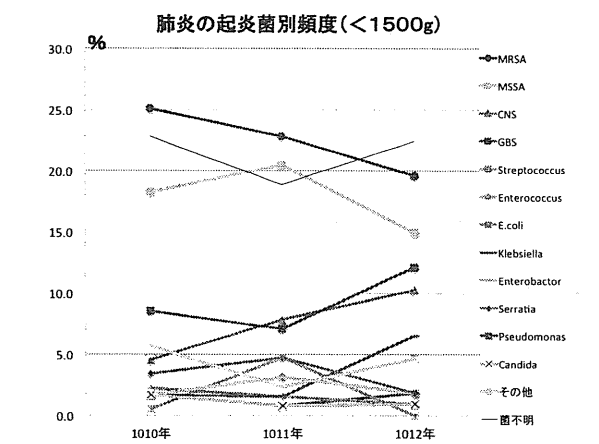
(3) 肺炎について

図10. 肺炎 (体重群別起炎菌頻度)



1000g以下の群でのMRSA・MSSAの頻度が高い。1501g以上での菌不明の率が52%と以上に高い。GBSは唯一1001g以上で頻度が上昇している。

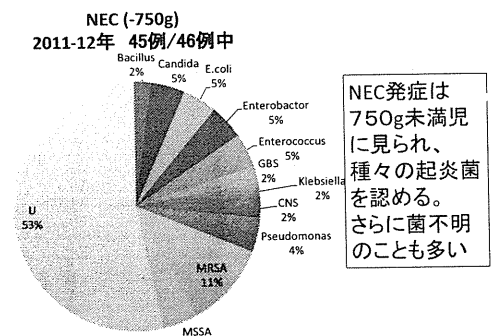
図11. VLBWにおける3年間の肺炎の菌種トレンド



MRSAは頻度が高いが、この3年で徐々に低下している。MSSAも高いが、横ばい。緑膿菌がそれに次いで高い。CNSは上昇傾向にある。Klebsiellaも元来低かったが、上昇してきている。

(4) 壊死性腸炎について

図12. この2年の壊死性腸炎の起炎菌



<体重群別起炎菌の分析から 小括>

- 1000g以下の児の起炎菌は、MRSA・MSSA・CNSが主で、Bacillusは750g以下の児のみに見られた。GBSは体重が大きいほど起炎菌となっている。E.coliは1001-1500gの敗血症・血流感染の、緑膿菌は全体重群で肺炎の原因として重要である。
- 1500g以上の児の敗血症・血流感染や肺炎と、750g以下の児のNECに菌不明が多いことが判明した。