

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

本研究では次世代シーケンサーを利用したメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の分子疫学解析の可能性を検討した。一塩基多型（SNP）による系統樹解析によって、集団感染株を識別可能であることが示された。

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。次世代シーケンサーが登場し、細菌の全ゲノム塩基配列を分子疫学解析に利用することが可能となってきた。本年度は、臨床分離された集団感染由来のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）をゲノム解析し、一塩基多型（SNP）を利用した系統樹解析による分子疫学解析の可能性を検討した。

B. 研究方法

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（表 1）使用した菌株はすべて Cica Geneus Staph POT kit（関東化学）を用いて遺伝子型を決定し、全ゲノム解析株選別の参考とした。

事例 1：NY/Japan クロウンの臨床分離 MRSA 34 株を用いた。内訳としては集団感染由来株（14 株）および散发事例から分離された菌株（20 株）。

事例 2：ST1、SCC*mec* type IV の臨床分離 MRSA 15 株。内訳としては集団感染由来株（8 株）および POT 型から散发事例と判断された 7 株。

2. MiSeq シーケンサーを用いて解析した。得られたデータは Abyss (Genome Res. 19:1117-1123, 2009) にて contig を作成し、MUMmer (Genome Biology, 5:R12, 2004) を用いて single

nucleotide polymorphisms (SNPs) を抽出した。Genomic islands および SNP 集積が見られた領域を除いたコアゲノムから得られた SNP を用いて、RAxML (Bioinformatics, btu033, 2014) で系統樹解析し、MEGA6 (Molecular Biology and Evolution 28: 2731-2739, 2011) を用いて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。

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

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

事例 1：SNP による系統樹解析の結果、集団感染事例由来株はきわめて近縁な関係にあり、同一集団事例内における SNP 数は 4-19 個であった。また、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 1）。しかし、同一 POT 型株でも散发事例由来株間の SNP 数は 21-67 個と多かった。さらに 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 クロウンとの主な差異は溶原ファージと pathogenicity island であった（図 2）。

事例2： SNPによる系統樹解析の結果、集団感染事例由来株は近縁な関係にあり、同一集団事例内における SNP 数は 14-50 個であった。ST1 のクローンでは POT 型とデンドログラムの間に明確な相関関係は見られなかった(図3)。

D. 考察

全ゲノムデータを元にした SNP による系統樹解析によって、高精度の分子疫学解析が可能であった。その一方、クローンによって SNP の入り方に差があることが示唆され、集団感染事例を解析する際、同一集団と判定するための SNP 数の閾値を特定の値に設定することは困難であると考えられた。クローン間で SNP 数に差が出た原因としては、コアゲノムの選択による変動が含まれた可能性がある。

全ゲノム解析による分子疫学解析は未だ報告事例が少ないため、データを蓄積し、集団感染と判断するための判断基準を作成する必要があると考えられた。

E. 結論

全ゲノム配列を利用した SNP による系統樹解析によって、高精度に分子疫学解析できる可能性が示されたが、院内感染時の分子疫学解析に使うには、データの蓄積が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

2. 論文発表

- 1) 松浦香里、飯沼由嗣、他 多剤耐性緑膿菌の検出におけるクロモアガーMDRP スクリーン培地の基礎検討 医学検査 62 : 64-68, 2014.
- 2) 飯沼由嗣 医療関連感染と制御 2 医療関連

感染で問題となる病原微生物・感染性因子の制御 (1) 細菌 防菌防黴 42 : 517-515, 2014.

2. 学会発表

- 1) 飯沼由嗣、馬場尚志、他 北陸地区における嫌気性グラム陰性桿菌の感受性サーベイランス. 第 88 回日本感染症学会学術講演会 第 62 回日本化学療法学会総会 合同学会 (2014 年 6 月) 福岡
- 2) 馬場尚志、飯沼由嗣、他 北陸地区におけるカルバペネム耐性緑膿菌に関する疫学的検討. 第 88 回日本感染症学会学術講演会 第 62 回日本化学療法学会総会 合同学会 (2014 年 6 月) 福岡
- 3) Suzuki M, Iinuma Y, et al. Development of a PCR-based molecular epidemiology method for *Pseudomonas aeruginosa*. IUMS2014 (July 2014) Montreal, Canada
- 4) 鈴木匡弘、馬場尚志、飯沼由嗣、他 次世代シーケンサーによる MRSA 集団感染事例の解析、第 43 回薬剤耐性菌研究会 (2014 年 10 月) 加賀市
- 5) 鈴木匡弘、馬場尚志、飯沼由嗣、他 次世代シーケンサーによる MRSA 集団感染事例の解析、第 26 回日本臨床微生物学会 (2015 年 1 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

表1 全ゲノム解析に用いた菌株

	POT 型	株数	備考
事例 1	93-190-127	8	集団感染事例
	93-190-127	6	集団感染事例
	93-223-117	6	散発事例
	93-201-103	6	散発事例
	93-136-103	1	散発事例
	93-254-99	1	散発事例
	93-138-98	1	散発事例
	93-136-2	1	散発事例
	93-191-103	1	散発事例
	93-209-25	1	散発事例
	93-201-35	1	散発事例
	93-145-56	1	散発事例
事例 2	106-183-32	5	集団感染事例
	106-183-33	3	集団感染事例
	106-183-32	2	散発事例
	106-183-37	2	散発事例
	106-183-41	2	散発事例
	106-183-45	1	散発事例

図1 NY/Japan クローンの全ゲノム SNP による系統樹解析

事例1 (NY/Japanクローン)

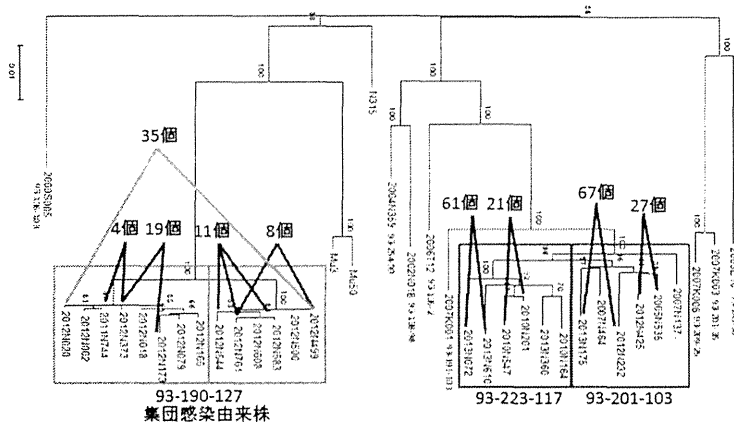
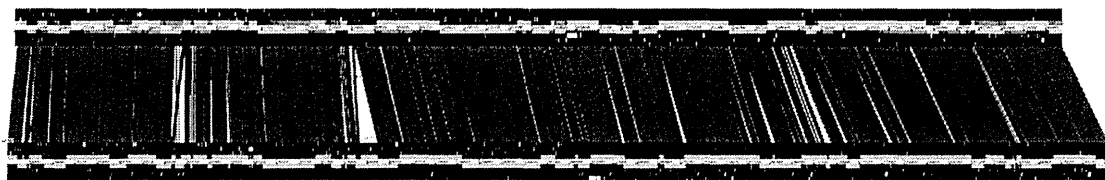


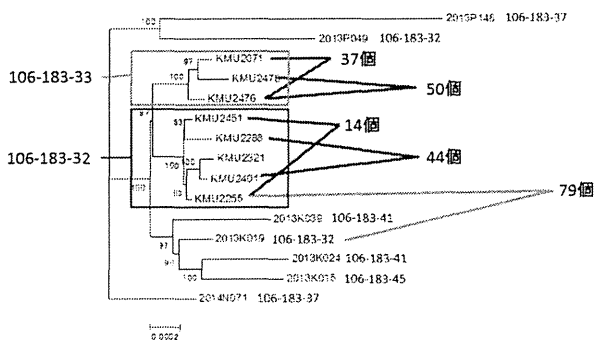
図2 NY/Japan クローン株データの Mu50 株データへのマッピング
POT 型 93-201-103 (2005N535 株)



Mu50

図3 ST1 SCCmec type IV の全ゲノム SNP による系統樹解析

事例2 (ST1 SCCmec type IV)



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 26 年度）

淋菌の薬剤感受性試験についての検討

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
中山周一 国立感染症研究所細菌第一部 主任研究官
志牟田 健 国立感染症研究所細菌第一部 主任研究官

研究要旨

淋菌の薬剤感受性試験は GC 寒天基礎培地に適切なサプリメント (IsovitaleX) を加えた培地を用い、平板希釈法を用いて実施する。また、本培地を用いた Etest の利用も認められている。しかしながら、一般の検査室ならびに試験機関においては汎用性の低い本培地を用意し、使用するのには一般的には困難である。そこでチョコレート寒天培地を用いた試験法の妥当性を確認した。結論として、チョコレート寒天培地をもちいた Etest は利用可能性があるが、チョコレート寒天培地を用いたディスク法では GC agar + IsovitaleX を用いたデータの互換性がないことが示された。チョコレート寒天培地を用いたディスク法を準用する際には適切な基準の設定が不可欠である。

A. 研究目的

淋菌感染症に関しては、抗菌剤投薬が必須である。耐性菌の出現で、抗菌剤選択が難しくなってきたことは淋菌感染症だけの固有の問題ではない。他の細菌感染症との最も大きな違いは、淋菌感染症においては再診率を高く維持することが困難であること、女性の場合は自覚症状に乏しく治療効果を自己判断する可能性が高いことなどから、ワンショットで確実に治療出来る (95%以上の治療効果が認められる) 薬剤を推奨する事となっている点である。このため、サーベイランスで感受性動向を調査していく事で、推奨抗菌剤を選択する事が重要である。また、現実的には分離同定検査よりも核酸検査の感度が高いことから、一般には分離同定試験につづく薬剤感受性試験を実施する機会が激減している。加えて、核酸検査が主体であり、分離・同定・薬剤感受性試験の需要が低いことから、淋菌用培地を備えている検査室も激減していることから

、時に依頼された場合でも実際の実施が困難であることも、薬剤感受性試験の実施の困難さに拍車がかかる悪循環が存在すると推察される。

経口のセファロスポリン耐性株の出現とその拡散が2000年以降おこり、現在の第一選択薬はセフトリアキソンとなり、世界中でセフトリアキソンに依存した治療法が選択されている。スペクチノマイシンも利用可能であるが、咽頭に存在する淋菌には効果期待されないことから、伝播を完全に抑えることは難しいとされる。

2009年にセフトリアキソン耐性株が世界ではじめて日本で分離された。分離地である京都、その近隣である大阪においてサーベイランスを実施した結果、その後の拡散は認められていない。しかしながら、耐性とされる基準値に近い感受性株の分離率が徐々に高まってきていることも観察されていた。このため今後は淋菌の薬剤感受性試験の需要が徐々に増加することが考えられる。より汎用性が高い器材をつかった薬剤

感受性試験のプロトコールが設定可能か検討する必要があった。

そこで、本研究ではチョコレート寒天培地あるいは市販の淋菌用生培地を用いた薬剤感受性試験を実施し、そこから得られる結果と標準法を用いた結果との比較解析を実施した。

B. 研究方法

菌株

041, FC0312, ITOH034, HI042, ITOH061, FC0323, FC0339, FC0340, FC0341, FC0363, FC0369, WHO-L 株を用いた。

培地

GC 寒天培地 (BD 社)、IsoVitalax (BD BBL)、チョコレート寒天培地 (Nissui Chocolate agar EXII)、ゴノテスト GC 寒天 (アップル科学) を用いた。

薬剤感受性試験

Etest ならびに Disk 法を実施した。Etest ならびに Disk 法は常法にて行った。

C. 研究結果

1: チョコレート寒天培地を用いた Etest による感受性試験

市販生培地であるチョコレート寒天培地 (Nissui, Chocolate agar EXII) と用いて淋菌の薬剤感受性試験 (Etest) を用いて実施した。セフトリアキソン、アジスロマイシンを含む 6 剤の MIC を淋菌 6 株の成績を表 1 に示した。相違はアジスロマイシンにおいて 6 株中 1 株において 3 倍の差が認められていたが、それ以外では同一あるいは 2 倍以内の差におさまった。

2: 市販淋菌用生培地を用いたアジスロマイシン感受性試験

検査機関から提供された Etest ストリップを用いたアジスロマイシン MIC 値と、感染研で実施し得られた MIC 値が異なり、耐性株判定に問題となることを経験してきた (表 2)。そこで、検査機関から使用器材とプロトコールを入手して、検討を行った。用いている培地と、菌懸濁液を作成するときの溶媒の 2 点が異なることが明らかになり、それぞれの検

証を行った。生食あるいは GC broth により菌懸濁液をそれぞれ OD=0.1 あるいは OD = 0.15 とし用いた場合でも、得られるアジスロマイシン MIC は同値であることが示された。一方で、市販淋菌用生培地を用いて試験を実施すると、アジスロマイシン MIC が標準法である BD 社製の GC agar に IsoVitelex を 1% 添加した培地 (GC 寒天培地-BD) を用いた場合に比較し 4 倍低い MIC 値が得られた (表 3)。参照株 WHO-L を用いた検証から GC 寒天培地-BD から得られる MIC 値が正しい値であることが推察された。

3: チョコレート寒天培地を用いたディスク拡散法

一般の検査室・検査機関で実施可能な方法として、

チョコレート寒天培地を用いたディスク拡散法が考えられる。そこで、Etest および GC 寒天培地-BD を用いて得られた MIC 値 (0.125, 0.094, 0.063 $\mu\text{g/ml}$) を示す各 3 株を利用して検討した。それぞれの株を GC 寒天培地-BD およびチョコレート寒天培地を用いてセフトリアキソンが形成する発育阻止円を測定した (図 1)。GC 寒天培地-BD で形成されるそれに比較して、チョコレート寒天培地上で形成される阻止円は小さくなることが示された。

D. 考察

淋菌の薬剤感受性試験は GC 寒天培地-BD を用いた平板希釈法あるいは Etest が世界的に使用される。また、ディスク法を用いる場合でも GC 寒天培地-BD を用いて、現在最も問題となっているセフトリアキソン感受性株 (CLSI では 0.25 $\mu\text{g/ml}$ 以下) に対する発育阻止円は 35 mm とされる (米国 CDC)。

しかしながら、GC 寒天培地-BD を一般の検査室ならびに試験機関で、淋菌株が分離されるたびに作成することは事実上困難である。淋菌用に市販されている生培地に関しては薬剤感受性試験で用いるためには十分な検証が必要であることを示した。本研究ではセフトリアキソンに関してはチョコレート寒天培地を用いた Etest を準用出来

る可能性を示した。また、チョコレート寒天培地を用いたセフトリアキソンディスクを用いた場合の、判定基準を定めることは困難であった。CLSI の提唱している感受性株の基準、0.25 µg/ml 以下、は現在では臨床的効果と一致しないことが指摘されており、世界的には(米国 CDC も含め) 0.125 µg/ml 以下の株の出現、広がりを監視する傾向にある。より詳細な基準を検討する必要があるが、30~35 mm の間に設定することで、0.125 µg/ml の紛れ込みを最小限として、MIC 0.125 µg/ml より大きい値となる菌株のスクリーニングの可能性はある。

E. 結論

薬剤耐性淋菌、特にセフトリアキソン耐性株の監視のための体系的な監視機構を構築する必要がある。公的機関によってどの

ようなサポートが必要であるか、関わって行けるか、更なる検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

なし.

3.

学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 Etest (GC + IsoVitalex vs Chocolate agar)

	PCG	CFM	CRO	CIP	AZM	SPT
H041	12	6	4	> 32	0.38	8
	16	8	4	> 32	0.38	8
FC0312	1.5	0.25	0.094	> 32	0.5	8
	1.5	0.38	0.064	> 32	0.5	6
ITOH034	0.125	< 0.016	0.006	0.008	0.064	4
	0.125	< 0.016	0.004	0.008	0.19	6
HI042	2	0.125	0.094	> 32	0.5	6
	1.5	0.25	0.094	> 32	0.5	8
ITOH061	1.5	0.25	0.064	> 32	0.38	8
	2	0.19	0.064	> 32	0.38	6
FC0323	1	0.19	0.047	> 32	0.5	8
	1.5	0.19	0.047	> 32	0.5	8

µg/ml

BD GC agar + Isovitalex

Chocolate agar (Nissui Chocolate agar EXII)

表2 市販淋菌用生培地を用いたアジスロマイシン感受性試験

	NIID protocol	●● protocol
FC-339	1.0	0.25
FC-340	1.0	0.25
FC-341	0.75	0.25
FC-363	0.75	0.25
FC-369	1.0	0.38

表3 市販淋菌用生培地を用いたアジスロマイシン感受性試験比較

- 感染研で2つのプロトコールを実施比較

	Saline OD 0.1	GC broth OD 0.15
BD GC + IsoVitalax	1.0	1.0
Gonotest Agar	0.25	0.25

μg/ml

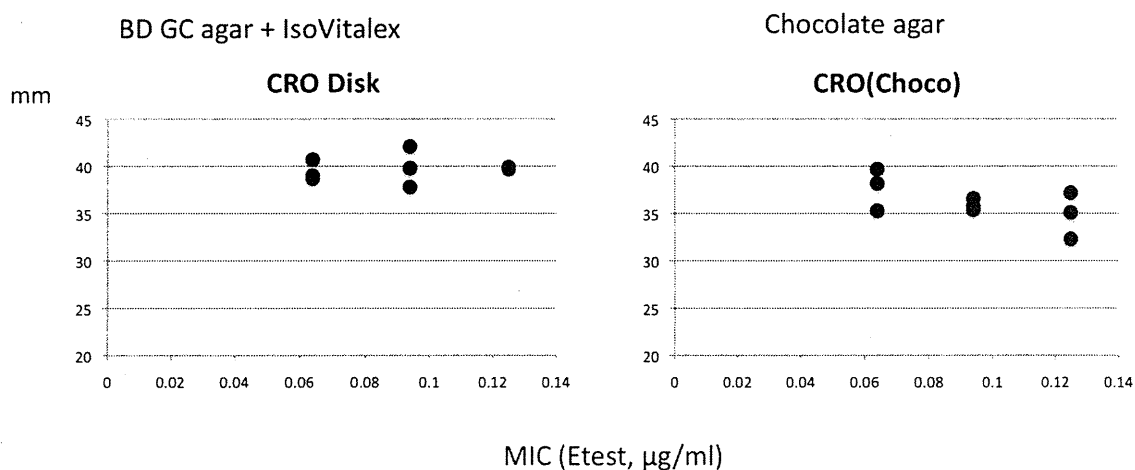
BD GC agar, supplemented with 1% BD BBL IsoVitalax enrichment

●●科学「ゴノテストGC寒天」

	BD GC + IsoVialax	Gonotest Agar
WHO-L (0.5)	0.38	0.125

μg/ml

図1 チョコレート寒天培地を用いたディスク拡散法



● CRO disk

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
分担課題 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）
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）

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。この新しい基準で行った 2011-2012 年の全国 NICU 感染症調査報告を行う。この調査に基づき新基準は 2014 年に一部改訂された。

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、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。さらに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小児科学会誌へ発表した。2013-14 年に劇症型壊死性腸炎の全国調査を行いその背景及び推定原因をまとめたので報告する。

B. 研究目的

1) 全国 NICU 感染症データ集計報告 (2010-12 年)

2011 年から全国 NICU 感染症データ集計を毎年行ってきたが、2010 年出生児は従来の方法で出生体重 1500g 未満を対象にして行い、その後 NHSN に準拠した感染症診断基準の改訂を行い、2011 年-2012 年出生の NICU における感染症に関するアンケート調査を新基準によるもので全体重群について行ったのでその報告をする。

2) 劇症型壊死性腸炎の発症形態とその背景因子を調べる。

最近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背景や原因を解析する。

その経緯も入れてデータ解析を行う。

表 1. 感染症診断基準の推移：

B. 研究方法

1) 2011-13 年は毎年、NICU における新生児感染症の全国アンケート調査を行い、特に 2011-12 年出生児は以下の新感染症診断基準で行ったので、

2000年	2011年まで	2012年から	2012年
感染症名	感染症名	感染症名	菌名
臨床的敗血症	敗血症	臨床的敗血症	MRSA
血流感染	血流感染	血流感染	MSSA
肺炎	肺炎(挿管)	肺炎	CNS
	肺炎(非挿管)		連鎖球菌
髄膜炎	髄膜炎	髄膜炎	GBS
NEC	NEC	NEC	腸球菌
動静脈炎		動静脈炎	緑膿菌
腸炎	腸炎		大腸菌
カンジダ症	カンジダ症		エンロバクター
NTED	NTED	皮膚感染症	クレブシエラ
SSSS	SSSS		セラチア
尿路感染	尿路感染	尿路感染	カンジタ
その他	その他	その他	バチルス
			その他
			菌不明

2011年までは従来の感染症診断基準で行い、2012年(2011-12年出生児はNICU入院児全数把握)から新感染症診断基準と菌種にバチルスの追加を行った。集計方法:2001年は新生児医療連絡会に所属している施設169施設に送付し回答率53%、2010年以降は周産期・新生児医学会の周産期研修施設430施設に送付し回答率40-26%であった。2000年、2010年出生児は極低出生体重児、2011-12年出生児は全体重群で行った。

2)2013年1月にNICUを持つ417施設に劇症壊死性腸炎のアンケート調査を行い132施設(基幹51、指定64、補完17)から回答(31.4%)を得た(劇症の定義は発症後1週以内の死亡か、直ちに腸管切除を施行した症例)。2003年以前の発症3例を加えて45例の概要を報告する。

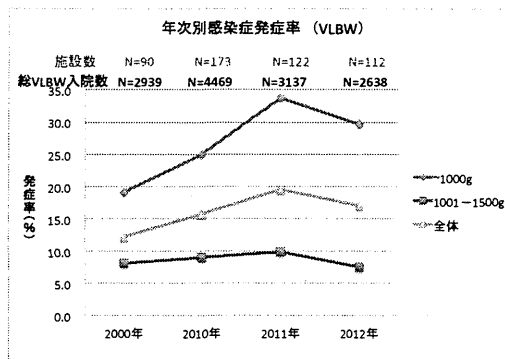
倫理面への配慮:以上の研究に関しては、すべて個人情報特定されるような項目は含まれていない。

C. 研究結果

1)2010-12年の3年間の極低出生体重児(VLBW)の感染症報告

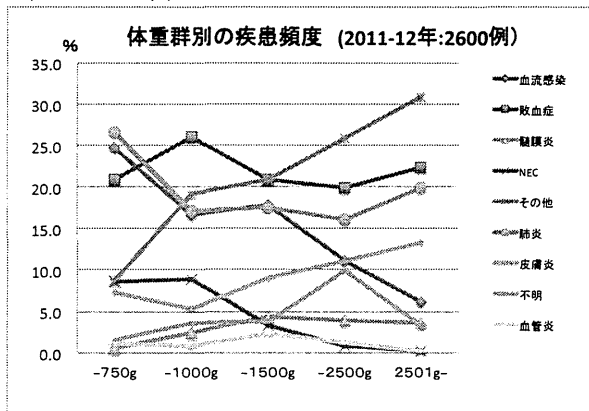
図1に年別のアンケート回答施設数と各年の極低出生体重児の施設への入院総数を記した。

図1. 2000年出生と2010-12年出生におけるVLBWの体重群別感染症発症率



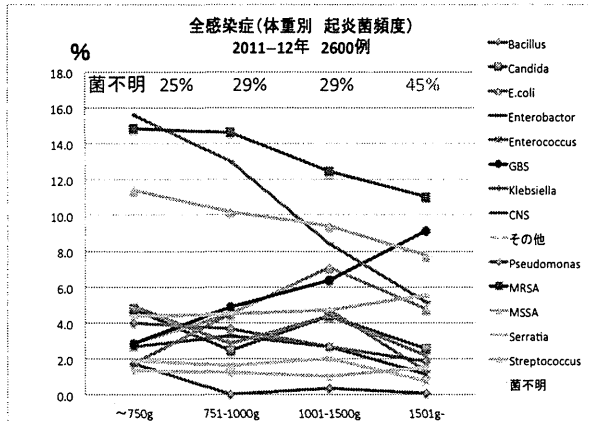
過去3年間の感染症発症率はELBWで上下があり参加施設内容が反映している可能性がある。

(1)全感染症について(体重群別)体重群別に疾患頻度(各体重群あたり100%として)を図2に示した。図2. 体重群別の疾患頻度(2011-12年)



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。敗血症は体重により差がないが、血流感染は体重が大きくなるほど減少している。肺炎は750g以下に頻度が高く、壊死性腸炎(NEC)は1000g以下に頻度が高い。

図3.全感染症における体重群別起炎菌頻度



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。GBSは体

重が大きいほど頻度が高い。

(2) 敗血症・血流感染について (体重群別)

新診断基準で敗血症・血流感染の起炎菌を体重群別で見ると 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、全体重量群に見られる。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 4. 敗血症・血流感染 (体重群別起炎菌頻度)

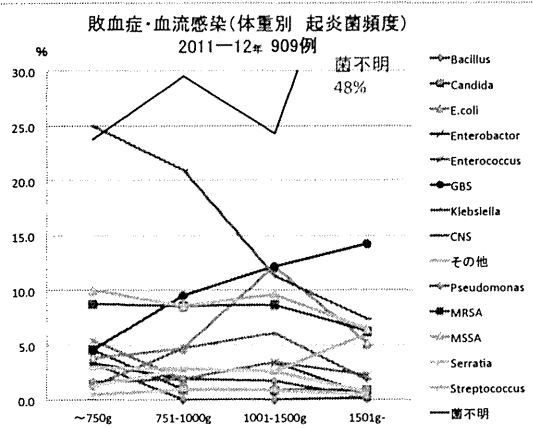
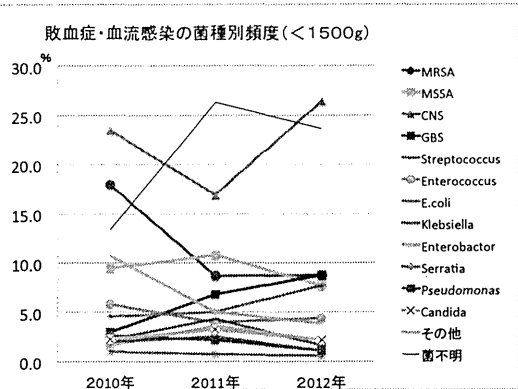


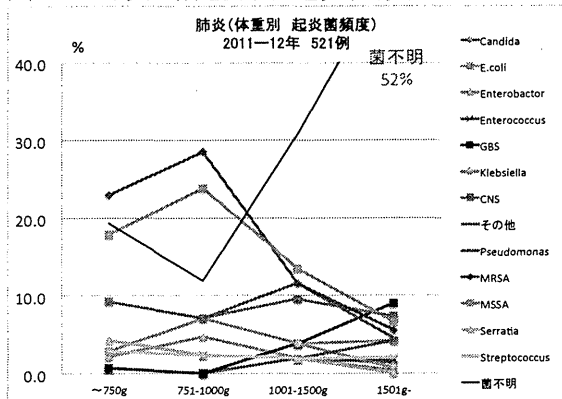
図 5. VLBW における 3 年間の敗血症・血流感染の菌種トレンド



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。

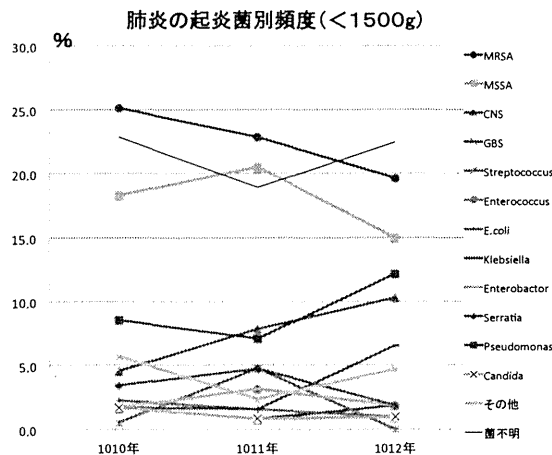
(3) 肺炎について (体重群別)

図 6. 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 7. 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。

結果のまとめ

(1) 過去 3 年間の全国 NICU における感染症発症率は ELBW で上下があり参加施設内容が反映している可能性がある。

(2) 全感染症について敗血症は体重により差がないが、血流感染は体重が大きくなるほど減少している。肺炎は 750g 以下に頻度が高く、壊死性腸炎 (NEC) は 1000g 以下に頻度が高い。

(3) 原因菌について、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。GBS は体重が大きいかほど頻度が高い。特に敗血症/血流感染では、原因菌不明が 1500g 以下で 25-30%、1500g 以上では 48% に上昇する。肺炎も同様である。

2) 劇症型壊死性腸炎 (fulminant necrotizing enterocolitis :fNEC) の発症状況とその背景

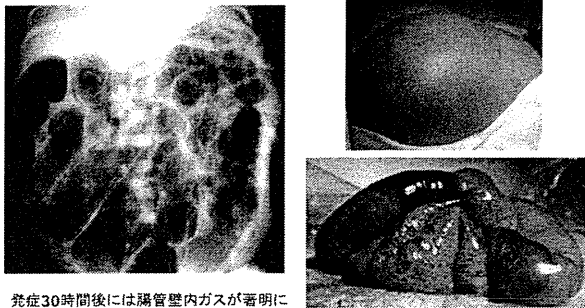
(1) 概要: 過去 10 年間に 42 例の症例 (33 人/基幹 16、9 人/指定 7、1 人/補完 1) があり、VLBW 総入院数は推定約 3 万人で発症率 0.14% と考えられ、2008 年から 5 年間で 33/42 (78%) と増加傾向にある。平均在胎期間は 25.9 ± 2.6w (22.2-34.4)、平均出生体重は 758 ± 314g (406-2076)、平均発症期間は 24.5 ± 17.6 日

(7-76)、平均発症時哺乳量は 114 ± 44 ml (6-187)、哺乳開始日から平均 4.5 ± 8.4 日 (0-52) で発症、哺乳内容は母乳 36 例 (80%)、混合 3 例 (6.7%)、人工乳 5 例 (11.1%) で、死亡率は 36/45 (84.4%) であった。症状は急激な腸管拡張 (91%)、腸管壁内ガス (49%)、門脈内ガス (40%)、嘔吐 (27%)、血便 (16%) を認めた。便培養では腸球菌 15 例、クレブシエラ 12 例、エンテロバクター 5 例、大腸菌 4 例、クロストリジウム 3 例を各々検出した。一方、血液培養 40 例中 25 例は陰性であった。

(2) fNEC の定義について

呼吸循環状態が安定している超低出生体重児 (ELBW) が、前兆としての消化器症状がほとんどなく、腹部膨満が急激に起こって発症し、小腸や大腸に腸管壁内ガス像がみられたり、全腸性壊死に近い状態をおこす。

fNEC 症例: 26w4d 968g 男, 双胎大児, 双胎間輸血症候群, RDS。母乳栄養で 12 日までに全量摂取可能となり、3 週間は安定していた。十二指腸チューブの位置を少しだけ短くして 10 時間後に、急激に NEC を発症し、全腸性壊死をおこして死亡した。



発症30時間後には腸管壁内ガスが著明に

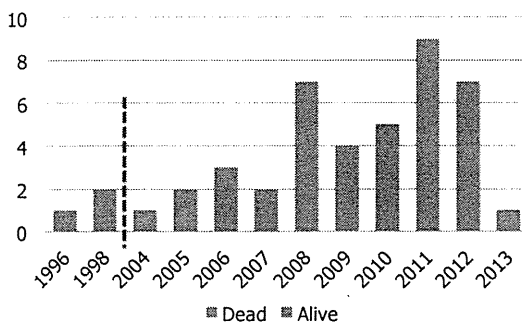
腸球菌と Klebsiella が便と腹水から培養された

(3) fNEC の発症背景について

NICU の回答率	131/431	(30.4%)
VLBW 全入院数	3085/8000	(38.5%)
Probiotics 使用率	74/131	(56.4%)
12 指腸チューブ使用	35/131	(26.7%)

(4) fNEC の年次推移について

劇症型 NEC の年次推移



劇症型 NEC は 2008 年頃から増加傾向に少ない症例で 2008 年頃から増加傾向にある。

(4) fNEC 症例の背景について

劇症型 NEC : 45 症例	平均	SD	範囲
在胎期間 (週)	25.9	2.6	(22.2-34.4)
出生体重 (g)	758	314	(406-2076)
発症日	24.5	17.6	(7-76)
発症時哺乳量 ml/kg/日	114	44	(6-187)
哺乳開始日	4.5	8.4	(0-52)
哺乳内容	N/45	(%)	
母乳	36	80%	
混合	3	6.7%	
ミルク	6	13.3%	
プロバイオティクス使用	25	55.6%	
12 指腸チューブ使用	14	31.1%	

NEC の少ないはずの母乳栄養が 80.0%

発症時期は、哺乳量が増量されて全量接種に近くなる頃であり、母乳が 80% と高く、しかもプロバイオティクスと 12 指腸チューブの使用率が高い。

(5) fNEC の臨床所見について

劇症型 NEC の臨床所見

臨床症状	N/45	(%)
嘔吐	12	26.7
血便	7	15.6
腸管拡張	41	91.1
腸管壁内ガス	22	48.9
門脈内ガス	18	40
腸管切除術施行	28	62.2
ドレナージのみ	3	6.7
死亡	38	84.4

通常の NEC と異なり、嘔吐や血便が少なく、腸管拡張がその主要所見であり、同時に腸管壁内ガスの検出率が 5 割と高い。腸管切除をおこなっても、死亡率が 85% と非常に高い。

(6) 細菌培養結果について

細菌培養では、便培養で腸球菌が 15 例で最も多く次いで Klebsiella 12 例、Enterobacter 5 例、E.coli 4 例、clostridium 3 例と続く。敗血症は Klebsiella pneumonia 3 例 (血液/便比 = 3/7:42%) と大腸菌 2 例 (血液/便比 = 2/4:50%) にみられ、頻度としては少ない。

細菌培養検査結果

便培養	血液培養
腸球菌: 15	陰性: 26 実施なし: 9
Klebsiella: 12 (K.pneumoniae: 7, K.oxytoca: 5)	K.pneumoniae : 3
Enterobactor: 5	E.coli: 2
CNS: 5	CNS: 2
E.coli: 4	腸球菌: 1
Clostridium: 3	MRSA: 1
Citrobactor: 1	GBS: 1
	Candida: 1

(7) 発症原因の検討

① ミルク内容変更による 6 症例

1. 発症時期は生後 3 週以内で、ミルクを増量中が主。平均発症日は 16 ± 5 日、母乳からミルク内容を変えてから約 2 日後 (2.0 ± 0.9 日) に起っている。

(3 週以内発症例 は 12 指腸チューブの使用率 (4/27:14.8%) と低い)

2. 起炎菌は腸球菌 3 例、Klebsiella oxytoca 2 例、Clostridium 1 例、E. coli 1 例、CNS 1 例で、血培陽性例は、K. oxytoca と CNS 各 1 例のみで、1 例を除いて全て腸管壁内ガスと門脈ガス陽性で、E. coli と E. faecalis が原因の 1 例以外は死亡。

3. プロバイオティックスは 6 例全例と高率 (ヤクルト BBG 3 例、森永 M16-V1 例、いずれも B. breve) に使用されていた

② 12 指腸チューブ使用の 5 症例

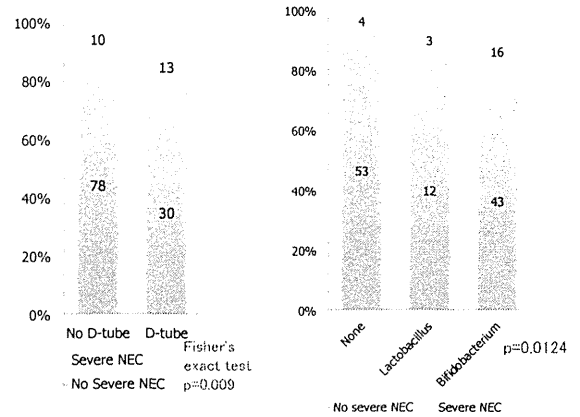
1. 発症は生後 3 週以後が多く、チューブからの吸引やチューブの位置調整後に短期間で発症。5 症例の NEC 平均発症日は、 32 ± 12 日で、チューブから吸引している施設で 3 例、位置調整後が 2 例。(3 週以後発症 12 指腸チューブの使用率 (10/18:55.6%) と高い)

2. 起炎菌は腸球菌 5 例共に、Klebsiella 4 例、Enterobactor 1 例と共同で検出されたが血培は陰性。全て腸管壁内ガスと門脈ガス両者が陽性である。

3. 5 例全例にヤクルト BBG が使用されていた。

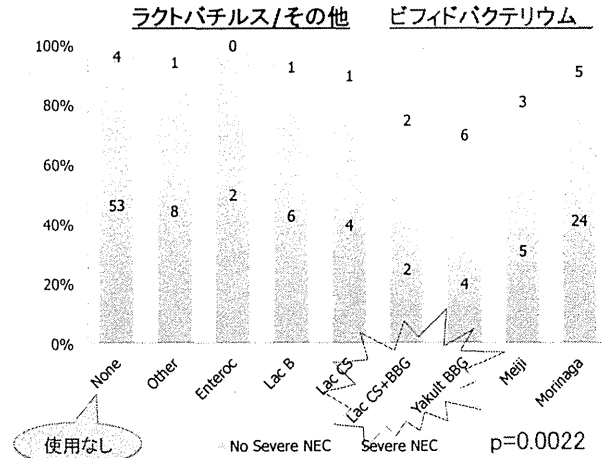
(8) プロバイオティックスと 12 指腸チューブの使用について

十二指腸チューブの使用(施設別) Probioticsの使用(施設別)



施設別の 12 指腸チューブ使用頻度は、発症施設の方が高い。同じくプロバイオティックスの使用頻度も発症施設の方が高く、ビフィズス菌が最も高く、乳酸菌がそれに次ぐ。

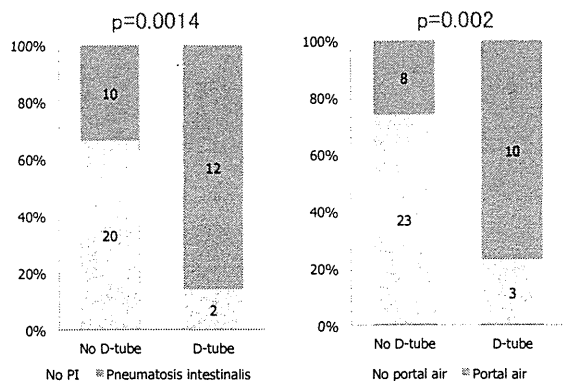
(9) プロバイオティックスの菌種について Probiotics の使用と劇症型 NEC の発生頻度(施設別)



最も発症頻度が高いのは、ヤクルトの BBG (Bifidobacterium) 使用施設で約 50% に上る。次いで明治、森永と続く。それ以外は少ない。

(10) 12 指腸チューブと腸管壁内ガス/門脈内ガスとの関係について

十二指腸チューブ使用と腸管壁内ガス/門脈内ガス(患者別)

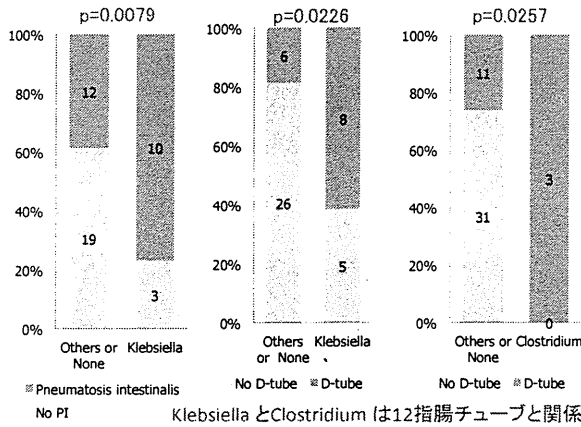


12 指腸チューブを使用しているほど両者のガスを呈することが 2-3 倍多い。

(11) 便培養による菌種と腸管壁ガスそして 12

指腸チューブとの関係

便培養検出菌と腸管壁ガス/十二指腸チューブ使用との関係(患者別)



腸管壁ガスと最も関係するのが、Klebsiella 属菌であり、それは 12 指腸チューブ使用時にも発症しやすい。またチューブと関係している菌種として Clostridium 属菌 (100%) がある。

結論

1. 劇症型 NEC の発症率は 0.15% と低いが、死亡率は 84% と高い。

2. 栄養は母乳のみが 80% と多く、プロバイオティクスが 56% に使用されていた。

3. 発症児の平均週数は 25.9 週、平均発症日は 24.5 日。

4. プロバイオティクスの使用 (ビフィズス菌 16/43 vs 乳酸菌 3/12 vs 使用なし 4/53 : p=0.0124) や 12 指腸チューブ (使用 13/30 vs 非使用 10/78 : p=0.009) の使用施設での発症率が高かった。

5. 乳酸菌よりもビフィズス菌の使用施設の方の発症率が高かった。

6. 起炎菌は腸球菌 15, Klebsiella 12, Enterobacter 5, E.coli 4, Clostridium 3。

7. 血液培養で陽性であったのは、Klebsiella 3, E.coli 2, 腸球菌 1. と少ない。

8. 腸管壁内ガスを 49%、門脈内ガスを 40% に認め、ガスを認める症例の 80% 以上で 12 指腸チューブ使用。

9. 腸管壁内ガスには Klebsiella が関与。この菌と Clostridium は 12 指腸チューブ使用例に多い。

10. 3 週以内の発症は「母乳からミルク内容の変更」時で哺乳量增量中に多く、3 週以降の発症は「12 指腸チューブ使用中」で管からの吸引と位置直しが関係している。

11. ミルク内容変更の場合、1 種類の菌が多く、12 指腸チューブの場合には、腸球菌と Klebsiella や Enterobacter との合併例が多い。両者ともにプロバイオティクスを使用している事が多く、腸管壁内と門脈内ガスの発生が両者共に多い。

考察

発症/非発症の背景因子には、12 指腸チューブ使用施設に多く、プロバイオティクス使用施設に多かったが、これが fNEC の発症と一部関係している可能性がある。fNEC の具体的な原因は現在の所は不明だが、従来と同じく、ミルク内容の変更も関係していると思われ、急な腸管内ガスの発生貯留に続くショックで腸内細菌叢の急激な交代が起こった結果と考えられた。ただ、このような状況がほとんど母乳哺育中に起こっており、宿主自身の免疫系も含めて、特殊な病態がある可能性も残っている。

E. まとめ

1) 全国 NICU 感染症データ集計報告 (2010-12 年)

(1) 過去 3 年間の全国 NICU における感染症発症率は ELBW で上下があり参加施設内容が反映している可能性がある。

(2) 全感染症について敗血症は体重により差がないが、血流感染は体重が大きくなるほど減少している。肺炎は 750g 以下に頻度が高く、壊死性腸炎 (NEC) は 1000g 以下に頻度が高い。

(3) 原因菌について、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。GBS は体重が大きいかほど頻度が高い。特に敗血症/血流感染では、原因菌不明が 1500g 以下で 25-30%、1500g 以上では 48% に上昇する。肺炎も同様である。

2) 劇症型壊死性腸炎の発症形態とその背景因子を調べる。

(1) 劇症型 NEC の発症率は 0.15% と低いが、死亡率は 84% と高い。

(2) 栄養は母乳のみが 80% と多く、プロバイオティクスが 56% に使用されていた。

(3) 発症児の平均週数は 25.9 週、平均発症日は 24.5 日。

(4) プロバイオティクスの使用 (ビフィズス菌 16/43 vs 乳酸菌 3/12 vs 使用なし 4/53 : p=0.0124) や 12 指腸チューブ (使用 13/30 vs 非使用 10/78 : p=0.009) の使用施設での発症率が高かった。

(5) 乳酸菌よりもビフィズス菌の使用施設の方の発症率が高かった。

(6) 起炎菌は腸球菌 15, Klebsiella 12, Enterobacter 5, E.coli 4, Clostridium 3。

(7) 血液培養で陽性であったのは、Klebsiella 3, E.coli 2, 腸球菌 1. と少ない。

(8) 腸管壁内ガスを 49%、門脈内ガスを 4

0%に認め、ガスを認める症例の80%以上で12指腸チューブ使用。

(9) 腸管壁内ガスには Klebsiella が関与。この菌と Clostridium は12指腸チューブ使用例に多い。

(10) 3週以内の発症は「母乳からミルク内容の変更」時で哺乳量増量中に多く、3週以降の発症は「12指腸チューブ使用中」で管からの吸引と位置直しが関係している。

(11) ミルク内容変更の場合、1種類の菌が多く、12指腸チューブの場合には、腸球菌と Klebsiella や Enterobacter との合併例が多い。両者ともにプロバイオティクスを使用している事が多く、腸管壁内と門脈内ガスの発生が両者共に多い。

F. 文献

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 大城誠、北島博之. 極低出生体重児における感染症に関する全国調査：2000年と2010年出生児の比較. 日本未熟児新生児学会雑誌 2014; 26(1):99-104.

2) Morioka I, Takahashi N, Kitajima H. Prevalence of MRSA colonization in Japanese neonatal care unit patients in 2011. *Pediatr Int.* 2014; 56: 211-214

2. 学会発表

1) 北島博之. NICUにおける新生児感染症の推移. シンポジウム 11. NICU 感染対策. 第29回環境感染学会 品川. 2014. 2. 14

2) 北島博之、望月成隆、野崎昌俊、白石淳、平野慎也. NICUにおける劇症壊死性腸炎に関する全国アンケート調査報告 第50回周産期・新生児医学会 横浜. 2014. 7. 14

3) 大木康史、北島博之、大城誠、荒川浩一. NICUにおける末梢穿刺中心静脈カテーテルの管理方法と血流感染率の関連 第59回未熟児新生児学会. 2014. 11. 11

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

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

分担課題 多剤耐性緑膿菌の院内感染対策に関する研究

研究分担者 切替 照雄 ((独) 国立国際医療研究センター研究所・感染症制御研究部・部長)

研究協力者 秋山 徹 ((独) 国立国際医療研究センター研究所・病原微生物研究室・室長)

多田 達哉 ((独) 国立国際医療研究センター研究所・感染症制御研究部・上級研究員)

島田 佳世 ((独) 国立国際医療研究センター研究所・感染症制御研究部・研究補助員)

霜島 正浩 (株式会社 BML 総合研究所・検査本部・次長)

研究要旨

本研究の目的は、多剤耐性緑膿菌の院内感染の実態を明らかにすること、ならびに、多剤耐性緑膿菌臨床分離株より流行型の薬剤耐性因子を同定し、それらを標的とする多剤耐性菌の迅速検出法を開発することである。本年度は、昨年度に引き続き 2014 年度に分離された多剤耐性緑膿菌臨床分離株において当研究部が開発した AAC(6')-Ib、AAC(6')-Iae および IMP-type メタロ-β-ラクタマーゼ産生多剤耐性緑膿菌の迅速診断イムノクロマトキットを用いて迅速診断し、これら薬剤耐性因子の動向を明らかにすると共に、IMP のタイピングを実施した。その結果、AAC(6')-Ib の増加とメロペネムにより耐性を示す IMP Ⅱ型の出現が明らかとなった。

A. 研究目的

近年、各地の医療施設において多剤耐性緑膿菌の分離報告及び院内感染報告が多数見受けられる。高度多剤耐性緑膿菌は、アミノグリコシド薬、ニューキノロン薬、カルバペネム薬に高度耐性を示し、治療が極めて困難であると共に、個々の施設内での感染伝播を引き起こす。今日の医療提携システムのもとでは、施設を超えて広域に伝播拡大していくことも懸念されている。そのため、感染拡大の防止及び対策を講じ、医

療の質と信頼を確保するために、高度多剤耐性緑膿菌の院内分離状況を把握する必要がある。本研究では、多剤耐性緑膿菌の分子疫学解析を行なうことにより重要な薬剤耐性因子を同定し、同菌の早期検出やモニタリングに有用な簡便かつ迅速な薬剤耐性菌検出法の開発を目指す。

B. 研究方法

1. 2014 年多剤耐性緑膿菌臨床分離株の分子疫学解析

2014年に分離された多剤耐性緑膿菌臨床分離株 304 株に対し、AAC(6')-Ib、AAC(6')-Iae および IMP-type メタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌迅速診断キットを用いてこれらの酵素の産生を確認した。また、IMP-type においてはシーケンスにより亜型を判定し、2013年度分離株と比較した。

2. IMP-34 産生緑膿菌の全ゲノム配列の解析および IMP-34 の酵素活性

IMP-34 産生多剤耐性緑膿菌 NCGM1900 のゲノムを CTAB 法で抽出し、沖縄総合科学研究所にゲノム解析を依頼、PacBioRSII でシーケンスし、Minimus2 でアセンブルした。完全長の配列はアノテーションし、DDBJ に登録した。IMP-1 および IMP-34 産生緑膿菌を用いて pHSG389-blaIMP-1 および pHSG389-blaIMP-34 を得た。大腸菌 DH5 α にトランスフォームしたトランスフォーマントを用いて種々の β-ラクタム剤に対する MIC を比較した。さらに、リコンビナント IMP-1 および IMP-34 を生成し、酵素学的性状を明らかにした。

倫理面への配慮

研究対象は、患者情報と完全に切り離された臨床分離株を使用する。本研究内容は、疫学研究に関する倫理指針（文部科学省、厚生労働省）の対象外である。

C. 研究結果

1. 2014 年多剤耐性緑膿菌臨床分離株の分子疫学解析

2014 年に分離された 304 株を解析した結果、IMP 陽性 176 株 (57.9%)、AAC(6')-Iae 陽性 115 株 (37.8%)、AAC(6')-Ib 陽性 107 株 (35.1%) であった (Table 1)。2013 年分離株 298 株は IMP 陽性 169 株 (56.7%)、AAC(6')-Iae 陽性 129 株 (43.3%)、AAC(6')-Ib 陽性 89 株 (29.9%) であったことから (Table 2)、AAC(6')-Iae 陽性株の分離率が減少し、AAC(6')-Ib 陽性株の分離率が増加したことが明らかとなった。

2014 年分離株の IMP タイプをシーケンスにより決定した結果、IMP-1: 99 株、

IMP-6: 7 株、IMP-7: 29 株、IMP-10: 32 株、IMP-34: 1 株、IMP-43: 8 株であった。

2. IMP-34 産生緑膿菌の全ゲノム配列の解析および IMP-34 の酵素活性

IMP-34 産生多剤耐性緑膿菌 NCGM1900 (Accession no. AP014622) の完全長のゲノム配列を明らかにした結果、aac(6')-Ib および IMP-34 を含むインテグロン *tnpA-int1-bla_{IMP-34}-aac(6')-Ib-qacEdeltaI-sulI-orfX-tniBdelta-tniA* が同一ゲノム上に 2 か所確認された (Fig. 1)。

pHSG389-blaIMP-1 および pHSG389-blaIMP-34 のトランスフォーマントを用いて種々の β-ラクタム剤に対する MIC を比較した結果、pHSG389 を持つコントロールと比較するとアズトレオナム以外の β-ラクタム剤に対する MIC が上昇していたが、pHSG389-blaIMP-1 および pHSG389-blaIMP-34 の比較では違いが見られなかった (Table 3)。また、酵素活性の比較では IMP-34 は IMP-1 に比べて全体的に低い活性を示した (Table 4)。

D. 考察

1. 2014 年多剤耐性緑膿菌臨床分離株の分子疫学解析

過去、我々の開発した IMP-type MBL、AAC(6')-Iae および AAC(6')-Ib 産生多剤耐性緑膿菌臨床分離株迅速診断キットを組み合わせると日本で分離される多剤耐性緑膿菌の約 8 割を迅速に検出できることが分かった。これらの迅速診断キットの普及により、院内感染対策として多剤耐性緑膿菌のモニタリングならびに早期検出に有効であることが期待される。

近年の解析から AAC(6')-Ib 産生菌の増加やカルバペネムに対してより耐性を示す IMP の出現が報告されていることから、今後も継続的なモニタリングをしていく必要がある。

2. IMP-34 産生緑膿菌の全ゲノム配列の解析および IMP-34 の酵素活性

2011 年より IMP-34 産生多剤耐性緑膿菌

が分離されるようになった。blaIMP-34 は広島県で分離された *Klebsiella pneumoniae* のプラスミドから同定された。この blaIMP-34 がプラスミドから緑膿菌の染色体上に転移した可能性が考えられる。また、同一染色体上に aac(6')-Ib および IMP-34 を含むインテグロンが 2 か所存在することで、より多くの酵素を産生している可能性が示唆された。

E. 結論

本研究から AAC(6')-Iae 陽性株が減少し、AAC(6')-Ib 陽性株が増加していた。また、IMP-34、IMP-41、IMP-43 および IMP-44 を含むメロペネムにより耐性を示す IMP タイプメタロメタロ-β-ラクタマーゼがいくつかの地域で分離されていることが明らかとなり、今後も注意深くモニタリングしていく必要がある。

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

3. 論文発表

- 1) Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Dahal RK, Mishra SK, Shimada K, Ohara H, **Kirikae T**, Pokhrel BM. Identification of a novel 6'-N-aminoglycoside acetyltransferase, AAC(6')-Iak from a multidrug-resistant clinical isolate of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(10): 6324-6327
- 2) Tada T, Shrestha B, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Ohara H, **Kirikae T**, Pokhrel BM. NDM-12 a novel New Delhi metallo-β-Lactamase variant from a carbapenem-resistant *Escherichia coli* clinical isolate in Nepal. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58(10): 6302-6305
- 3) Tojo M, Mawatari M, Hayakawa K, Nagamatsu M, Shimada K, Mezaki K, Sugiki Y, Kuroda E, Takeshita N, Kutsuna S, Fujiya Y, Miyoshi-Akiyama, **Kirikae T**, Ohmagari N.: Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from a traveler returned from Brunei. *J Infect Chemother.* 2014; in press.
- 4) Tojo M, Nagamatsu M, Tanaka M, Narahara K, Miyoshi-Akiyama, **Kirikae T**, Ohmagari N.: Evaluation of an automated rapid diagnostic test for detection of *Clostridium difficile*. *PLoS One.* 2014; 9(8): e106102
- 5) Tojo M, Tada T, Shimojima M, Tanaka M, Narahara K, Miyoshi-Akiyama T, **Kirikae T**, Ohmagari N. Dissemination in Japan of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing IMP-type metallo-β-lactamases and AAC(6')-Iae/AAC(6')-Ib. *J Infect Chemother.* 2014; 20(9):586-588
- 6) Hayakawa K, Miyoshi-Akiyama, **Kirikae T**, Nagamatsu M, Shimada K, Mezaki K, Sugiki Y, Kuroda E, Kubota S, Takeshita N, Kutsuna S, Tojo M, Ohmagari N.: Molecular and Epidemiological Characterization of IMP-Type Metallo-β-Lactamase-Producing *Enterobacter cloacae* in a Large Tertiary Care Hospital in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58(6): 3441-3450
- 7) Tojo M, Fujita T, Ainoda Y, Nagamatsu M, Hayakawa K, Mezaki K, Sakurai A, Masui Y, Yazaki H, Takahashi H, Miyoshi-Akiyama, Totsuka K, **Kirikae T**, Ohmagari N.: Evaluation of an automated rapid diagnostic assay for detection of Gram-negative bacteria and their drug-resistance genes in positive blood cultures. *PLoS One.* 2014; 9(4): e94064
- 8) Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, **Kirikae T**. Biochemical analysis of metallo-β-lactamase NDM-3 from a multidrug-resistant *Escherichia coli* strain isolated in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58(6):3538-3540
- 9) Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Shimojima M, **Kirikae T**. Dissemination of 16S rRNA methylase ArmA-producing *Acinetobacter baumannii* and emergence of OXA-72 carbapenemase-coproducers in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58(5):2916-2920
- 10) Hashimoto A, Nagamatsu M, Ohmagari N, Hayakawa K, Kato Y, **Kirikae T**.: Isolation of OXA-48

carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* from a traveler returning from a foreign country to Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2014; 67(2): 120-121

- 11) Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Dahal RK, Sah MK, Ohara H, Shimada K, **Kirikae T**, Pokhrel BM. NDM-1 metallo- β -lactamase and ArmA 16S rRNA methylase producing *Providencia rettgeri* clinical isolates in Nepal. *BMC Infect Dis.* 2014;14(1):56.

2. 学会発表

- 1) 多田達哉・秋山徹・切替照雄. IMP-43

and -44 producing multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Japan、第 87 回日本細菌学会総会、平成 26 年 3 月、東京都船堀

- 2) 多田達哉・秋山徹・島田佳世・切替照雄. 日本の医療施設で分離される多剤性緑膿菌株の分子疫学解析、第 43 回薬剤耐性菌研究会、平成 26 年 10 月、金沢

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

AAC(6')-lae and/or IMP-type MBLs産生菌

		IMP-type MBLs		
		Positive	Negative	Total
AAC(6')-lae or -lb	AAC(6')-lae Positive	110	5	115 (37.8%)
	AAC(6')-b Positive	50	57	107 (35.1%)
	Negative	16	66	82
	Total	176 (57.9%)	128	304

Table 1

AAC(6')-lae and/or IMP-type MBLs産生菌

		IMP-type MBLs		
		Positive	Negative	Total
AAC(6')-lae or -lb	AAC(6')-lae Positive	118	11	129 (43.3%)
	AAC(6')-b Positive	42	47	89 (29.9%)
	Negative	9	71	80
	Total	169 (56.7%)	129	298

Table 2