

年齢階級別の死亡率では、年齢と死亡率の間にはJカーブ現象が存在していることはよく知られている。MRSAに感染するリスクの年齢階級別分布にJカーブ現象が存在しているとしても矛盾はない。

レセプトデータとJANISにおいてMRSA患者の定義は同一ではない。レセプトデータでは薬剤耐性の検査結果は把握できない。患者の状態からMRSAを実際に検出する前に抗MRSA薬が使用された可能性などを考慮すると、レセプトデータによるMRSA患者の定義はJANISよりも広い範囲となっていることが推察される。いずれにしても年齢階級別の罹患率比はほぼ一定であったことから、患者の年齢によってJANISへの届け出が変化しているとは考えられない。診断の定義やJANIS参加医療機関の状況を考慮してレセプトデータとJANISデータのより精密な比較を行うことは今後の課題である。

本研究には大きな二つの長所がある。第1は、医療機関の届け出に基づかない情報源を用いて感染症サーベイランスの評価を実施したことである。MRSAによらず、通常の感染症サーベイランスは医療機関からの届け出に依存しているため、届け出基準に該当する症例が存在したとしても医療機関からの届け出が行われないうために実態を過小評価する可能性が指摘されている。従来の感染症サーベイランスの評価は医療機関に対して届け出対象となる疾病の受診者数を直接照会することによるものがほとんどである。これらについても、結局は医療機関から回答が得られるとは限らず、無回答となる医療機関の割合によっては結果の評価が困難となる。レセプトは保険診療の範囲で行われた医療に対する費用の支払いに関する書類であり、保険診療であるならば必ず情報が集積されるという長所を有する。海外ではレセプトや診療録などの既存情報を用いた薬剤耐性菌流行状況の評価が行われている。日本でも成人麻疹の定点サーベイランスの評価において、定点サーベイランスシステムでは流行が把握されなかった時期において、レセプトデータでは流行が確認されたことがある。レセプト情報を用いたサーベイランスの評価は有用であるといえる。

第2は、特定の人口集団について、統一された症例の定義による患者数を全て把握した上で罹患率を算出できたことである。従来のMRSAサーベイランスは、特定の医療機関において診療を受けた患者数を報告する形式で実施されている。そのため、患者が自由に医療機関を選択可能な状況では医療機関の所在地と患者の住所が必ずしも一致するとは限らない。そのため、人口集団を特定して発生状況や罹患率を把握することは困難である。そのため、これまでの日本の感染症サー

ベイランスの評価では、症例数や定点当たりの患者数や入院患者1000人日当たりの患者数などが流行発生の指標とされていた。これらの指標は分母となる人口にも影響を受けるため、異なる地域間での比較や異なる二時点間の比較を行う上では注意が必要である。

本研究の主な限界としては2点挙げられる。第1は、レセプトデータベースによるMRSA感染の診断基準は抗MRSA薬を静注された患者としており、患者から分離された病原体の薬剤耐性に基づくものではないことである。JANISでは薬剤耐性を確認された上で報告されており、異なる診断基準を用いていることに留意した上で本研究から得られる結果を解釈する必要がある。近年の抗MRSA薬を始めとする広域スペクトル抗菌薬の使用に関するガイドラインでは患者から分離された病原体の薬剤耐性を確認した後に抗MRSA薬を使用することが定められている。全ての医療機関がガイドラインに沿った診療を行っているとは限らないが、抗MRSA薬が使用される状態であったという意味では再現性を有する定義となっている。感染症サーベイランスにおける診断の定義としては厳密なものとする程度広範囲な定義を目的に応じて使い分けることが求められている。麻疹のサーベイランスでは、流行の迅速な把握を目的とした症状及び症候による診断基準を用いるものと診断の正確性を重要視し抗体検査の結果に基づく診断基準を用いるものの双方が実施されている。サーベイランスの目的に応じた診断基準を設定することで、サーベイランスの評価はさらに効果的に実施可能となる。

第二は、抗MRSA薬の使用状況と年齢以外の情報について検討していないという限界である。MRSA感染は市中感染と院内感染に大別されるが、本研究ではそれらは区別されていない。また、MRSA感染は身体の様々な部位に生じ、その原因も様々である。JANISでは感染部位や病原体が検出された検体採取部位に関する情報も収集されている。薬剤耐性菌に関する多くのサーベイランスでは、手術の有無や中心静脈カテーテル留置の有無や院内感染か市中感染の区分などMRSA感染の原因に関する情報が収集されている場合がある。レセプトは医療保険に関する事務処理のために作成される書類であり、傷病名や使用した薬剤及び行われた処置に関する情報も記載される。日本のレセプトは入院外と入院に大別され、入院はさらに急性期病院を対象としたDPCとそれ以外の入院に分類される。DPCレセプトには患者重症度などの情報が記載され、病院の規模と肺炎による死亡などの評価が行われている。レセプトに記載されたさまざまな情報を活用した感染症サ

ーバイランスの評価手法を検討することは今後の課題である。

E. 結論

本研究は複数の健康保険組合におけるレセプトデータを用いて抗 MRSA 薬を静注された入院患者数を把握することで MRSA 患者の罹患率を年齢階級別に検討した。全国で行われている MRSA 感染症サーベイランスのデータと比較した結果、ほぼ全ての年齢階級で罹患率の比は一定の範囲となっており、レセプトデータを用いて把握した MRSA 患者の状況を感染症サーベイランスの評価に活用することが可能であることが示された。

F. 健康危機情報

該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当事項なし

2. 学会発表 谷原真一. レセプトデータによる JANIS サーベイランスの評価. (第 30 回日本環境感染学会総会・学術総会、2015 年 2 月 20 日、神戸)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当事項なし

2. 実用新案登録

該当事項なし

3. その他

該当事項なし

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 多剤耐性菌のベータラクタマーゼの解析

研究分担者 舘田 一博 (東邦大学医学部微生物・感染症学講座)
研究協力者 石井 良和 (東邦大学医学部微生物・感染症学講座)
青木 弘太郎 (東邦大学医学部微生物・感染症学講座)

研究要旨

本研究では、カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE) の効率的な検出法について検討した。CPE 94 株の薬剤感受性検査成績において、イミペネム (IPM)、メロペネム (MEPM) およびラタモキシム (LMOX) に対してそれぞれ 9.6%, 14.9% および 87.2% が耐性を示した。非感性にカテゴライズされた菌株はそれぞれ 17.0%, 31.9% および 96.8% であった。RAPIDEC CARBA NP では CPE の検出感度は 96.8% であった。シカベータテストでは、IMP 型および IMP, CTX-M 型の両酵素産生株について、判定の正確性はいずれも 95% 以上であった。また、クイックチェイサーIMP は IMP 型酵素産生株において 100% の検出感度であった。本検討の結果から、LMOX に対して非感性を示す菌株に対して、市販キットのカルバペネマーゼ産生確認試験を行うことで、効率良く CPE の検出が可能であると考えられた。

A. 研究目的

平成 26 年 9 月 19 日に感染症法が改正され、CRE 感染症が 5 類感染症として全数把握に位置づけられた。CRE の定義はメロペネム (MEPM) の最小発育阻止濃度 (MIC) が $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ を示す菌株、もしくはイミペネム (IPM) に $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ かつセフトラゾールに $\geq 6 \mu\text{g/mL}$ を示す菌株である。しかしながら、日本における CRE の主要なカルバペネム系薬剤耐性因子である IMP-1 グループに属するメタロ- β -ラクタマーゼ (MBL) の産生腸内細菌科細菌の多くは、MEPM および IPM に感性 ($\text{MIC} \leq 1 \mu\text{g/mL}$) を示すことが知られる。したがって、感染症法に定められた定義では多くの MBL 産生株を取りこぼしていることが想定される。上述のことから、IPM および MEPM はカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE) の検出には不適である。我々は、ESBL および AmpC β -ラクタマーゼに対しては安定で、MBL に対しては非常に不安

定であるという特徴をもつ LMOX を用いて、CPE の効率的な検出法を検討した。さらに、各種カルバペネマーゼ産生株について市販のカルバペネマーゼ産生確認試験キットの有用性の検討も合わせて実施した。

B. 研究方法

腸内細菌科細菌のうち、各種カルバペネマーゼ産生株 94 株、Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) 産生株 3 株および AmpC β -ラクタマーゼ産生株 2 株を供試した (表)。

薬剤感受性検査は、Clinical laboratory standards institute (CLSI) の文章に準拠した微量液体希釈法にて実施し、フローズプレート‘栄研’ (栄研化学) を用いた。感性 (S)、中間耐性 (I) および耐性 (R) の判定は M100-S22 の文章に基づいた。測定薬剤は、IPM, MEPM および LMOX (ラタモキシム) とした。

カルバペネマーゼ産生確認試験として市販キットのRAPIDEC CARBA NP (bioMérieux), シカベータテスト (関東化学) およびクイックチェイサーIMP (ミズホメディール) を用いた。

倫理面への配慮

本研究課題の一部の供試菌株は、東邦大学医学部倫理委員会において、①課題番号:25068、課題名:複数の医療施設から分離されたメタロ-β-ラクタマーゼ産生 *Enterobacter cloacae* に関する分子疫学的検討、②課題番号:26037、課題名:東京都立小児総合医療センターで臨床分離されたメタロ-β-ラクタマーゼ産生グラム陰性菌のプラスミドの遺伝子解析として承認を得た。他の供試菌株は③課題番号:25032、課題名:全国医療施設からの臨床分離株の薬剤耐性および遺伝型の依頼解析として非該当の判定を受けた。

C. 研究結果

カルバペネマーゼ産生株 (n=94) において、IMP, MEPM および LMOX に対して耐性を示した菌株がそれぞれ 9.6%, 14.9% および 87.2% であった。同様に、非感性を示す菌株がそれぞれ 17.0%, 31.9% および 96.8% であった。MBL 産生株 (n=86) において IPM, MEPM および LMOX に対して耐性を示した菌株が 4.7%, 11.6% および 94.2% であった。同様に、非感性を示す菌株が 11.6%, 30.2% および 100% であった。ESBL 産生株 (n=3) のうち 1 株は MIC 値 IPM=4 μg/mL, MEPM=8 μg/mL および LMOX=128 μg/mL を示し、いずれの薬剤も耐性であったが、残りの 2 株はいずれの薬剤も感性であった。AmpC 産生株 (n=2) はいずれも IPM および MEPM に感性を示した。LMOX に対しては一方の菌株は感性、もう一方の菌株は耐性を示した。

RAPIDEC CARBA NP において、GES 型カルバペネマーゼ産生株 (n=3) を除いたすべてのカルバペネマーゼ産生株のカルバペネマーゼ産生性が確認された (陽性率:96.8%)。

シカベータテストにおいて、カルバペネマーゼ産生株のうち IMP 型のみ産生株 (n=44)

は 95.5% が MBL 産生株にカテゴライズされた。また IMP 型および CTX-M 型の両酵素を産生する菌株は、95.2% が複数の β-ラクタマーゼ産生もしくはクラス D に属するカルバペネマーゼの産生株にカテゴライズされた。NDM 産生株 (n=1) も同様に、複数の β-ラクタマーゼ産生もしくはクラス D に属するカルバペネマーゼの産生株にカテゴライズされた。また、KPC 産生株 (n=3)、NMC-A 産生株 (n=1) および OXA-48-like (n=1) 産生株はいずれも AmpC 産生株にカテゴライズされた。GES 産生株はいずれもシカベータテスト陰性となった。

クイックチェイサーIMP において、IMP 産生株 (n=85) はいずれも陽性となった (感度 100%)。その他の β-ラクタマーゼ産生株 (n=14) は陰性であった。

D. 考察

薬剤感受性検査成績より、IPM および MEPM に耐性を示した CPE はそれぞれ 9.6% および 14.9% に留まった。一方、LMOX に対して耐性を示した CPE は 87.2% であり、本薬剤が IPM および MEPM に比較して CPE のスクリーニングに優れていることが示された。さらに、非感受性のカテゴリを用いると、CPE は 96.8%, MBL 産生株に限っては 100% とスクリーニング感度を向上させることが出来ると考えられた。

RAPIDEC CARBA NP は CPE における陽性率が 96.8% と非常に高感度であった。しかしながら、GES 型酵素産生株は本キットの基質である IPM に対しての耐性を示したにもかかわらず、検出できなかった。本キットは IPM の β-ラクタム環がカルバペネマーゼによって加水分解される際に生じる分解産物による pH の低下の検出を原理とするが、GES 型酵素の一部は IPM への親和性は高い一方、分解速度が非常に遅いため、規定の判定時間内に検出出来なかったと考えられた。

シカベータテストは IMP 産生株および IMP, CTX-M 型の両酵素産生株においては、95% 以上の精度で β-ラクタマーゼの産生性について正確に判定が可能であった。NDM 型酵

素は本キットに採用されている MBL 阻害剤（メルカプト酢酸ナトリウム）に阻害されにくい性質があるため、正確な判定が出来なかった。OXA-48-like 産生株が AmpC と判定されてしまった理由は不明であった。また、GES 型酵素は本キットの基質として採用されているセファロスポリン系薬の分解効率も非常に悪いため、GES 型酵素産生株はシカベータテスト陰性となったと考えられた。

クイックチェイサーIMP は IMP 型酵素産生株について検出感度が 100%であった。日本における MBL 産生株はほとんどが IMP 型であるため、本キットの使用は非常に有用であると考えられた。

E. 結論

LMOX に対して非感性を示す菌株に対して、市販キットのカルバペネマーゼ産生確認試験を行うことで、効率良く CPE の検出が可

能であると考えられた。

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) 今井和花、村上日奈子、湯本重雄、青木弘太郎、岩田守弘、榎園恭子、佐々木雅一、福澤滋、前原千佳子、安井久美子、吉住あゆみ、石井良和、舘田一博：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の効率的な検出方法に関する検討、第 26 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、2015 年 1 月 31 日、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. IMP-1 産生 *E. cloacae* の薬剤感受性検査成績

(μ g/mL)

抗菌薬	レンジ	MIC ₅₀	MIC ₉₀	耐性率 (%)
IPM	≤0.125-64	2	8	22.5
CTX	16-512	256	>512	100
CFPM	1-512	32	128	52.1
AZT	0.25-512	16	256	54.9
PIPC/TAZ	2/4->512/4	32/4	256/4	29.6
LMOX	512->512	>512	>512	100
AMK	1-16	2	8	0
CPFX	0.25-64	2	64	46.5

菌種内訳

Enterobacter spp. : 55 株, *Escherichia coli* : 20 株, *Klebsiella pneumoniae* : 14 株, *K. oxytoca* : 10 株

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 グラム陽性菌（腸球菌、黄色ブドウ球菌）の多剤耐性に関する研究

研究分担者 富田 治芳 （群馬大学医学系研究科・細菌学・教授）
研究協力者 谷本 弘一 （群馬大学医学系研究科・薬剤耐性菌実験施設・准教授）

研究要旨

この研究では、主要な院内感染症起因菌とされる多剤耐性のバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）、およびメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の薬剤耐性について研究を行った。臨床分離 VRE 株としてフランスで報告された新規の VanN 型 VRE を日本国内の環境中に見出し解析を行った。フランス臨床株と遺伝子型が類似する VanN 型 VRE 株が国内産鶏肉にも存在することを明らかにした。臨床分離 MRSA 株の各種抗 MRSA 薬に対する感受性試験では感受性に大きな変動は見られず、これまでと同等の治療効果が期待できることが示された。特にバンコマイシン高度耐性株の出現やバンコマイシン感受性低下傾向は認められず、また臨床で治療困難が指摘され問題と考えられている MIC 値 2 mg/L を示す株の多くは 1.5 mg/L であった。またグラム陽性菌を含む多剤耐性菌に効果があると期待されるホスホマイシンの耐性に関わる研究を行い、新たな耐性機構を明らかにした。

A. 研究目的

日本で増加中のバンコマイシン耐性腸球菌 VRE に関する耐性機構の解析、伝播・拡散機構の解明、分子疫学研究は国内では十分に行われていない。本研究では国内で分離される VRE について解析しその情報を発信し、国内の医療施設における VRE の院内感染予防対策に寄与する。

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 MRSA の治療薬として使用される各種抗菌薬（抗 MRSA 薬）の感受性動向調査が組織的には行われていないため、治療薬選択、投与方法について臨床現場で混乱が生じている。組織的かつ高精度管理の下、MRSA の薬剤感受性試験を行い、科学的根拠に基づく正確で適切な耐性菌情報を臨床へ発信することを

目的とする。

グラム陽性菌を含む多剤耐性菌に対する治療薬として古典的だが、他の抗菌薬とは作用機構が異なるホスホマイシンがあり見直されている。今後、臨床的に問題になると危惧されるホスホマイシン耐性に関する新たな耐性機構に関する研究を行った。

B. 研究方法

国内で分離された臨床分離 VRE 株、MRSA 株について収集し、各種薬剤に対する感受性検査、および耐性遺伝子の分子遺伝学的解析を行った。VRE に関してはヒトへの伝播拡散の一要因とされる環境（食肉）由来株についても解析を行った。さらに VRE による国内最初の院内感染アウトブレイク事例の VRE 株が生産する新規バクテリオシンの

生化学的解析を行った。ホスホマイシンの新たな耐性機構の研究として、最も研究が進み、多くの知見の積重ねがある大腸菌をモデル細菌として用い、解析を行った。

倫理面への配慮

全ての臨床分離株は患者個人を同定できる情報を含まない検体として収集し、本研究に用いた。

C. 研究結果

未知の Van 型 VRE (*E. faecium*) 株を国内産鶏肉から分離し、解析の結果、フランスの臨床分離株として報告された VanN 型 VRE と同一型であり、世界で 2 例目の株として報告した。さらに類似の VanN 型 VRE 株が過去においても複数の食肉検体から分離されていたことを明らかにした。VRE の新規バクテリオシンが細胞壁溶解酵素型バクテリオシンであることを明らかにした。

これまでに収集した臨床分離 MRSA 株 (2004 年, 2008 年, 2011 年, 2012 年, 2013 年分離の合計 3,576 株) の各種抗 MRSA 薬 (バンコマイシン、テイコプラニン、リネゾリド、アルベカシン、キノプリスチン・ダルホプリスチン) の MIC 値に明らかな変動は認めなかった。またバンコマイシン高度耐性株、感受性の低下傾向も認めなかった。バンコマイシンの MIC 値 2 mg/L の株を詳細に調べたところ、その大部分は 1.5 mg/L であった。

ホスホマイシン耐性に関与する新たな遺伝子として細菌が持つ複数の二成分制御系 (CpxAR と TorSRT) が関与していることを明らかにした。

D. 考察

VanN 型 VRE (*E. faecium*) は 2011 年にフランスの臨床株として初めて報告された新規の Van 型 VRE である。今回、日本の環境中 (複数の食肉検体) から同一型 VRE を分離した。レトロスペクティブな解析の結果、VanN 型 VRE は 2009 年に収集された食肉検体に既に存在しており、一部の株で、宿主の遺伝型はフランスの臨床分離株と類似し

ており遺伝的な関連性を認めた。これらの結果は、新規 VanN 型 VRE は既に環境中に拡散していることを示唆している。VRE の新規バクテリオシンが細胞壁溶解酵素型バクテリオシンであることを初めて明らかとした。

国内で臨床分離される MRSA 株の各種抗 MRSA 薬の感受性に大きな変動は無かったことから、細菌学的には臨床効果が期待できることが示された。特に臨床で最も多く用いられているバンコマイシンの MIC 値の上昇傾向や、バンコマイシン高度耐性株は存在せず、また治療困難とされる MIC 値 2 mg/L の株は少数であったことからバンコマイシンの治療効果は以前と同等であることが期待される。

細菌にはホスホマイシン耐性に関わる二成分制御系が存在することから、これらの働きを考慮した効果的な抗菌薬投与法の考案、あるいはこれらの制御系を阻害するような新規薬剤の開発が求められる。

E. 結論

新規 VanN 型 VRE を国内産食肉から複数分離した。国内の臨床分離 MRSA 株の抗 MRSA 薬の感受性分布に明らかな変動は無く、多くの株が感受性を示した。収集株にバンコマイシン耐性 MRSA 株は存在しなかった。抗菌薬として再評価されているホスホマイシンの投与には菌の耐性機序を考慮した適正な使用が望まれる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kudo M, Nomura T, Yomoda S, Tanimoto K, Tomita H. Nosocomial infection caused by vancomycin-susceptible multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* over a long period in a university hospital in Japan. *Microbiology Immunology*. 58:607-614,

2014.

2) Kurushima J, Nakane D, Nishizaka T, Tomita H. Bacteriocin protein BacL₁ of *Enterococcus faecalis* targets cell division loci and specifically recognizes L-Ala²-crossbridged peptidoglycan. *Journal of Bacteriology*. 197:286-295, 2015.

3) Kurabayashi K, Hirakawa Y, Tanimoto K, Tomita H, Hirakawa H. Identification of a second two-component signal transduction system that controls fosfomycin tolerance and glycerol-3-phosphate uptake. *Journal of Bacteriology*. 197:861-871, 2015.

2. 学会発表

- 1) 久留島潤、林幾江、中根大介、西坂崇之、菅井基行、富田治芳. 腸球菌バクテリオシン Bac41 による殺菌メカニズムの解析. 第 87 回日本細菌学会総会. 2014 年 3 月 26 日 東京.
- 2) 野村隆浩、柴山恵吾、荒川宜親、谷本弘一、富田治芳. 日本の VanN 型 VRE について. 第 87 回日本細菌学会総会. 2014 年 3 月 27 日 東京.

- 3) 平川秀忠、倉林久美子、平川裕子、谷本弘一、富田治芳. 二成分情報伝達系による腸管出血性大腸菌のホスホマイシン抵抗性と炭素源獲得の可逆的制御. 第 87 回日本細菌学会総会. 2014 年 3 月 27 日 東京.
- 4) 富田治芳、谷本弘一. バンコマイシン耐性 MRSA の現状. 三学会 (化学療法学会西日本、感染症学会中日本、西日本) 合同学術集会. 2014 年 10 月 24 日 岡山.
- 5) 野村隆浩、谷本弘一、富田治芳. 新たに日本で分離された VanN 型 VRE について. 第 26 回日本臨床微生物学会総会. 2015 年 2 月 1 日 東京.
- 6) 谷本弘一、野村隆浩、富田治芳. 群馬県内の医療施設で分離された CA-MRSA について. 第 26 回日本臨床微生物学会総会. 2015 年 2 月 1 日 東京.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

新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 日常検査における薬剤耐性菌の検出方法の確立
および薬剤感受性検査の精度管理に関する研究
～サーベイランスに用いる日常検査データの問題点と対策の検討～

研究分担者 長沢 光章（東北大学病院 診療技術部 副部長／検査部門長）

研究協力者 犬塚 和久（JA 愛知厚生連）、郡 美夫（東京医学技術専門学校）
佐藤 智明（東京大学医学部附属病院）、堀 光広（岡崎市民病院）
静野 健一（千葉市立海浜病院）、大花 昇（福島県立医科大学）
柳沢 英二（ミロクメディカルラボラトリー）

研究要旨

本研究では、JANIS データからの CRE 検出状況および JANIS データの要確認データの検証を行った。CRE 検出率は 0.3%～9.4%であったが、感染症法で定義されている判定薬剤 MEPM と IPM+CMZ および測定機種で乖離があり、CRE 判定における薬剤感受性検査結果のみの限界、機種間差、そして判定基準の見直しが必要と考えられた。MRSA のリネゾリド (LZD) の測定器種別データおよび *Stenotrophomonas maltophilia* の IPM の薬剤感受性成績について検討し、測定機種による乖離や特定施設による誤報告が認められた。また、アミノグリコシド耐性株における 16S rRNA メチラーゼ遺伝子の保有状況について測定し、2008 年の分離株の検討とほぼ同様で増加傾向は認められなかった。

A. 研究目的

現在、薬剤感受性検査の各施設における精度管理の現状や自動細菌検査装置の機種によるデータ傾向が正確に把握出来ていない。また、微生物検査室で検査すべき薬剤耐性菌の種類や検査方法についてのガイドや指針が無く、各施設で検出できる薬剤耐性菌が異なっている現状である。さらに、JANIS データの薬剤感受性成績からでは検出状況が判断できない基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌やカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 薬剤耐性菌など検出状況が把握できていないものもある。

今回我々は、薬剤感受性検査における精度管理および検出法の確立と普及、そして検査室で一般的に実施していない薬剤耐性

菌の検出状況把握を行うことを目的とし、特に CRE の検出状況等について検討した。また、アミノグリコシド耐性株における 16S rRNA メチラーゼ遺伝子の保有状況についても検討した。

B. 研究方法

1. JANIS データからの CRE 検出状況

2014 年 4 月～5 月に JANIS 検査部門に報告された *Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Enterobacter cloacae*、*Citrobacter freundii*、*Serratia marcescens*、*Proteus mirabilis* のうちメロペネム (MEPM) or/and イミペネム (IPM) とセフメタゾール (CMZ) の MIC 値が入力されている菌株を対象とした。なお、MIC 値が MEPM $\geq 2\mu\text{g/mL}$ 、IPM \geq

2 μ g/mL、CMZ \geq 64 μ g/mLを CRE とした。

2. JANIS データの要確認データの検証

今年度は、MRSA のリネゾリド (LZD) の測定器種別データおよび *Stenotrophomonas maltophilia* の IPM の薬剤感受性成績について検討した。

3. アミノグリコシド耐性株における 16S rRNA メチラーゼ遺伝子の保有状況

我々の開発した LAMP 法による 16S rRNA methylase genes (*rmtA*, *rmtB* および *armA*) の保有状況について検討を行った。

東北大学病院、山形大学病院およびミロクメディカルラボラトリーの 3 施設において 2013 年 8 月から 2014 年 5 月までの期間に分離された *Enterobacteriaceae* 1,873 株、*P. aeruginosa* 399 株、*Acinetobacter* spp. 177 株、合計 2,449 株中、アミノグリコシド (ゲンタマイシン ; GM or/and アミカシン ; AMK) 耐性であった *Enterobacteriaceae* 41 株、*P. aeruginosa* 11 株、*Acinetobacter* spp. 7 株の合計 59 株を収集した。なお、薬剤感受性の判定基準は、CLSI M100 S-18 に準じ、GM \geq 16 μ g/mL および AMK \geq 64 μ g/mL を耐性と判定した。

LAMP 法の操作法は、Loopamp DNA amplification kit (Eiken Chemical Co., Ltd.)を用いた。Loopamp reaction tube に、2 \times reaction mixture 12.5 μ L、各プライマー 1 μ L ずつ、Bst-DNA polymerase 1 μ L、検体菌株を 95 $^{\circ}$ C、10 min で抽出し遠心して得た上清液 2 μ L、Loopamp fluorescent detection reagent 1 μ L、蒸留水 2.5 μ L を入れ、65 $^{\circ}$ C、60 min 反応し、目視判定を行った。

倫理面への配慮

1 および 2: JANIS データ使用に関しては、統計法第 33 条に基づく調査票情報の利用に係る誓約書を厚生労働大臣に提出し承認を得ている。

3: 提供を受けた菌株に添付される情報は、

菌種名および薬剤感受性検査成績のみであり、臨床データなどの情報提供は受けていない。

C. 研究結果

1. JANIS データからの CRE 検出状況

(1)集計菌株数

各菌種の菌株数は表 1 に示した通りであった。感染症法の CRE 判定に必要な MEPM または IPM の \geq 2 μ g/mL が判定できない、すなわち感染症法の CRE が判定不能な菌株が菌種により異なるが、10%~15%存在した。

(2)判定不能菌株の推移 (図 1)

MEPM の \geq 2 μ g/mL が判定不能な株数を 2013 年 4 月と 2014 年 4 月で比較した結果、判定不能菌株数がほぼ半減していた。

(3)菌種別 CRE 検出状況

実際の菌種別 CRE 検出割合を表 2 および図 2 に示した。*E. cloacae* の IPM による判定は約 10%と他と比較して高い結果となった。他の菌種では 0.03%~2.4%の検出率であった。また、*E. coli*、*K. pneumoniae*、*P. mirabilis* の ESBL 産生が多い菌種では MEPM による判定の方が IPM による判定よりも検出率が高い結果となった。一方、*E. cloacae*、*C. freundii*、*S. marcescens* など AmpC を持つ菌種に関しては MEPM による判定の方が IPM による判定より検出率が低い結果となった。また、MEPM、IPM 両薬剤の MIC 値を測定している菌株についても同様の傾向があった。

(4)測定器種別の CRE 検出率 (表 3)

測定機器別に CRE の検出割合を比較した結果、測定機器 12 が他の機器と比較し検出率が高い結果となった。

2. JANIS データの要確認データの検証

(1) MRSA における LZD の薬剤感受性の測定機種別による成績

MRSA における LZD の薬剤感受性の測定機種 (方法) 別の成績を表 4 に示した。測定方法によって耐性率が 0%から 12.2%であった。

(2) *S. maltophilia* の IPM の薬剤感受性成

績

S. maltophilia における IPM の薬剤感受性成績は、2014 年 4 月に検出された 225 施設中 211 施設はすべて耐性であったが、13 施設はすべて感受性と報告されていた。また、13 施設のうち 11 施設での測定機種は同一の機種であった。

3. アミノグリコシド耐性株における 16S

rRNA メチラーゼ遺伝子の保有状況(表 5)

Enterobacteriaceae (*E. coli*) で *rmtB* 陽性が 1 株検出された。なお、*rmtA* および *armA* は検出されなかった。検出率は、*Enterobacteriaceae* では総株数に対しては 0.05%、アミノグリコシド耐性株に対しては 2.4%であった。

表 1. CRE 判定基準による集計菌株数

	<i>E. coli</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. freundii</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>P. mirabilis</i>
総菌株数	53,109	6,381	18,692	2,829	4,539	3,920
MEPM	41,487	5,123	15,404	2,147	3,483	3,195
不能	5,010	553	1,780	317	436	338
不能%	12.1	10.8	11.6	14.8	12.5	10.6
IPM	43,120	4,924	14,442	2,278	3,597	2,047
不能	3,922	422	1,504	261	338	475
不能%	9.1	8.6	10.4	11.5	9.4	23.2

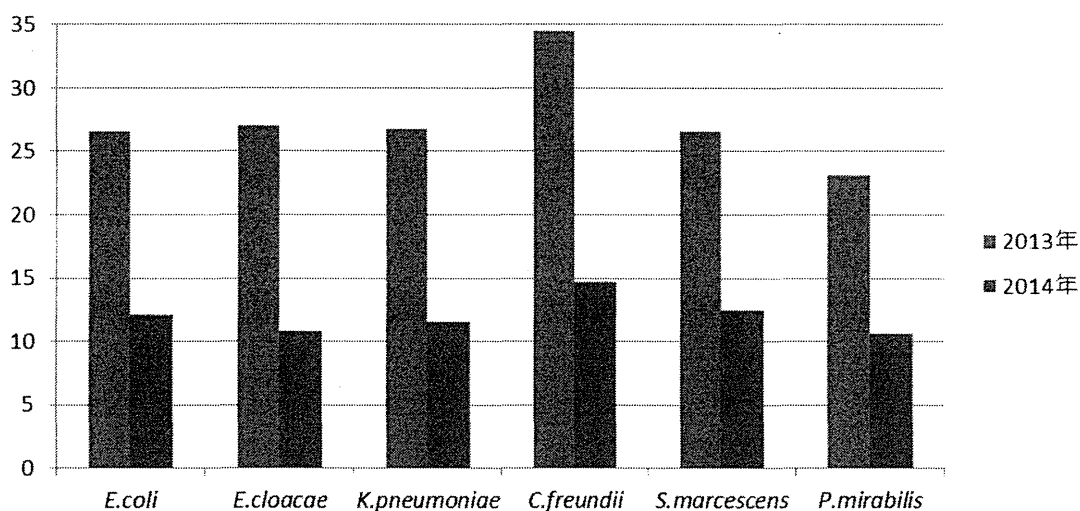


図 1. CRE 判定不能菌株数の推移

表 2. 菌種別および判定基準による CRE 検出状況

	<i>E. coli</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. freundii</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>P. mirabilis</i>
実株数	27,870	3,268	9,759	1,353	2,252	1,054
MEPM	194	58	112	14	40	25
%	0.7	1.8	1.1	1.0	1.8	2.4
IPM+CMZ	9	307	31	28	54	10
%	0.03	9.4	0.3	2.1	2.4	0.9
両条件	8	35	22	6	14	1
%	0.03	1.1	0.2	0.4	0.6	0.1

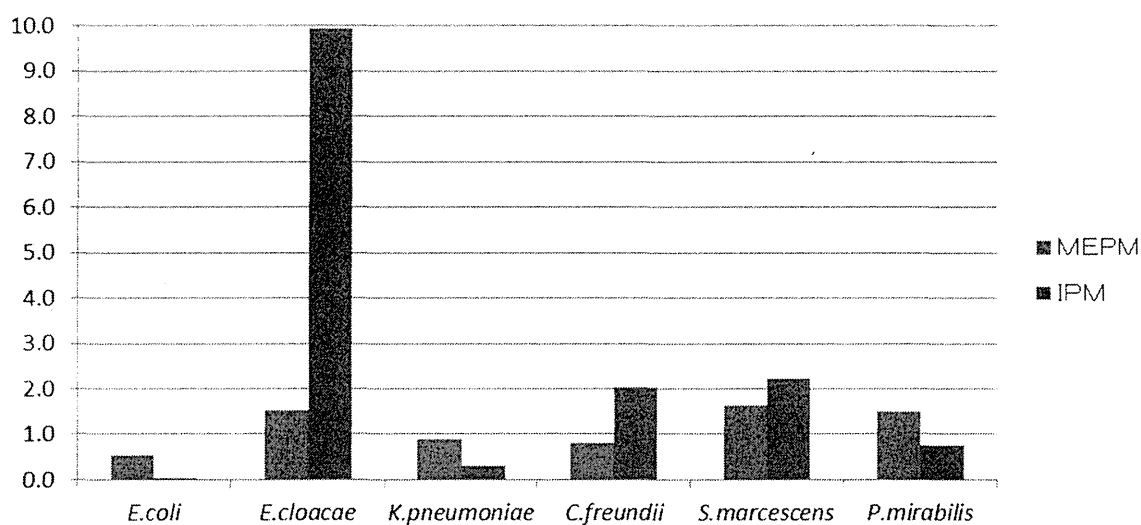


図 2. 菌種別および判定基準による CRE 検出状況

表 3. 測定器種別の CRE 検出率

測定機器	菌株数	CRE株数	CRE%
11	26,408	125	0.47
12	528	53	10.04
13	1,250	5	0.40
22	2,262	1	0.04
23	9,240	15	0.16
24	1,731	4	0.23
36	873	1	0.11
39	1,221	4	0.33
99	632	1	0.16

表 4. MRSA の LZD 感受性成績

方法	株数	≤ 2	≥ 4	
12	181	159	22	
17	134	120	14	
13	257	234	23	
11	6520	6012	508	
99	431	400	31	
22	538	504	34	
36	254	247	7	
23	1634	1594	40	
31	158	155	3	
39	203	202	1	
24	327	327	0	

表 5. アミノグリコシド耐性株における 16S rRNA メチラーゼ遺伝子の保有状況

Bacterial species	Isolated	Resistant to AMK or GM		Harboring 16S rRNA methylase gene, n			Rate of 16S rRNA methylase-producing strains, %
		n	%	<i>rmtA</i>	<i>rmtB</i>	<i>armA</i>	
<i>Enterobacteriaceae</i>	1,873	41	2.19	0	1	0	0.05
<i>E. coli</i>		29	-	-	1	-	-
<i>K. pneumoniae</i>		4	-	-	-	-	-
<i>E. cloacae</i>		3	-	-	-	-	-
<i>P. mirabilis</i>		2	-	-	-	-	-
<i>P. stuartii</i>		2	-	-	-	-	-
<i>S. plymuthica</i>		1	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> sp.	177	7	3.95	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	399	11	2.76	0	0	0	0
Total	2,449	59	2.41	0	1	0	0.04

D. 考察

JANIS データからの CRE の検出状況について検討したが、CRE 判定に必要な MEPM または IPM の $\geq 2\mu\text{g/mL}$ が判定できない施設が 10%~15% 存在した。これらの施設で使用している機器が CLSI 2008 の判定基準のままで、現在の CLSI 2012 年判定基準にバージョンアップされておらず、感染症法に規定された耐性菌の判定ができないことになり問題である。早急に使用パネル(カード)を $\geq 2\mu\text{g/mL}$ が判定可能なものに変更することが必要である。しかし、MEPM の $\geq 2\mu\text{g/mL}$ が判定不能な株数を 2013 年 4 月と 2014 年 4 月で比較した結果、判定不能菌株

数がほぼ半減していたことから、各施設でパネルの変更が進行中であると考えられ、2015 年度初めにはほとんどの施設で感染症法の CRE 判定が可能となると思われるが、CLSI 判定基準の変更に迅速に対応できるシステム作りが重要と考えられる。

CRE の検出率は 0.3~9.4% であったが、判定方法が MEPM と IPM+CMZ では検出率に差があり、特に *E. cloacae* では 1.8%、9.4% と大きく乖離した結果となった。また、測定機種によっても大きく乖離していることなどから、CRE 判定における薬剤感受性検査結果のみの限界、機種間差、そして判定基準の見直しが必要と考える。

MRSA の VCM の薬剤感受性結果に測定機種間差が認められることを報告してきたが、MRSA の LZD についても機種間差が認められた。原因は不明であるが、他の薬剤と菌種の組み合わせについても機種間差の詳細な検討が望まれる。

S. maltophilia はカルバペネム系薬は耐性であるが、225 施設中 13 施設はすべて感受性と報告しており、菌株の誤同定もしくは薬剤感受性の誤判定が強く疑える。微生物検査における日常の精度管理の必要性を痛感する。しかし、施設内でこのようなデータが報告されていることは少々疑問であり、JANIS 報告用ファイル作成時のコード変換の誤り等の可能性もあるのではないかと考える。

アミノグリコシド耐性株における 16S rRNA メチラーゼ遺伝子の保有状況については、平成 21(2009)年の我々の本研究で 2008 年の臨床分離株において、アミノグリコシド耐性であった *Enterobacteriaceae* 52 株、*Acinetobacter* sp. 3 株、*P. aeruginosa* 77 株の合計 132 株を用いた。その結果、*Enterobacteriaceae* で *rmtB* 陽性が 2 株(菌種は *Enterobacter cloacae* と *Citrobacter freundii* がそれぞれ 1 株)、*Acinetobacter* sp. で *armA* 陽性が 2 株、*P. aeruginosa* で *rmtA* 陽性が 3 株検出された。検出率は、*Enterobacteriaceae* では総株数に対しては 0.07%、アミノグリコシド耐性株に対しては 3.8%であった。同様に、*Acinetobacter* sp. では 3.51%、66.6%、*P. aeruginosa* では 0.10%、3.9%であったと報告した(平成 21 年度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)分担研究報告書「日常検査における薬剤耐性菌の検出方法の確立および薬剤感受性検査の精度管理に関する研究」)。

今回の 2013 年 8 月から 2014 年 5 月までの臨床分離株を用いた検討でも、*E. coli* で *rmtB* 陽性が 1 株検出されたのみで、本法での 16S rRNA メチラーゼ遺伝子保有株は増

加していないことが確認されたが、欧米等での検出状況から、今後も病院などの臨床検査室においてアミノグリコシド耐性株では 16S rRNA methylase gene の検査を行い、監視を行っていくことが重要と考える。

E. 結論

JANIS データを解析し、CRE の検出状況、MRSA における LZD の MIC 値とその変動因子、*S. maltophilia* の IPM 薬剤感受性成績について検討を行った。また、アミノグリコシド耐性株における 16S rRNA メチラーゼ遺伝子の保有状況について測定を行った。

今後、JANIS 事業において日本の耐性菌検出状況を正確に把握するためには薬剤感受性試験の内部精度管理実施率を高めるとともに、測定機器における機種間差、新規に参加する施設に対しては精度管理の実施状況を確認し、データの信頼性を高めることが必要と考える。また、日常検査における薬剤感受性検査の精度管理法の確立(方法および菌株)と日常検査で実施すべき薬剤耐性菌の種類についてガイドライン等を作成する必要がある。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

・ Mitsuaki Nagasawa, Mitsuo Kaku, Kazunari Kamachi, Keigo Shibayama, Yoshichika Arakawa, Keizo Yamaguchi, Yoshikazu Ishii, Loop-mediated isothermal amplification assay for 16S rRNA methylase genes in Gram-negative bacteria. *Journal of Infection and Chemotherapy* 20 (10) : 635-638, 2014

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記事項なし。

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・[新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進事業]）

平成 26 年度 分担研究報告書

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「院内感染対策の高精度化を目的とした電子システムの開発と応用に関する研究」

研究分担者	藤本 修平	東海大学医学部基礎医学系生体防御学
研究協力者	村上 啓雄	岐阜大学医学部附属病院生体支援センター 地域医療医学センター
	八束 眞一	医療法人社団日高会日高病院 臨床検査室
	都倉 昭彦	北杜市立塩川病院 病院長
	輿石 芳夫	北杜市立塩川病院 臨床検査科
	本間 操	都立松沢病院検査科 臨床検査室
	山下 計太	筑波メディカルセンター病院診療技術部臨床検査科
	静野 健一	千葉市立海浜病院 臨床検査科微生物検査室
	石黒 信久	北海道大学病院 感染制御部
	岩崎 澄央	北海道大学病院 検査・輸血部

研究要旨

前年度に引き続き、感染対策の電子化による高精度化、高効率化を目的として標準化、アルゴリズムの開発、研究成果の実用システムへの実装、実用システムの改良および普及に関する研究を行った。1) 標準化: 前年度作成した「耐性菌条件/警告・案内定義メッセージファイル」(第 2 版) に対して主な細菌検査機器メーカー、データ管理装置メーカー、および、保健医療福祉情報システム工業会 (JAHIS) から意見収集を行った。さらに、改良を加えた第 3 版を作成、メッセージを生成するためのインターフェイス、メッセージを読み込むためのインターフェイスを作成し、実証システムに実装しさらに、2DCM-web でもこれを利用して耐性菌、複数菌種を条件に含む菌グループの表示を可能にする試験を行った。2) アルゴリズムの開発: a) 前年度までに精度を向上させた菌の確率的異常集積警告 (PMA) 簡易アルゴリズム (PMAL) の実証システムを構築した、b) 2DCM のカラーコードを耐性度を反映するようにするための方法を研究し、実証システムに実装し、2DCM-web に耐性度によるカラーコードを実装する試験を行った。3) システム実装等の研究と普及: a) Σ -alert matrix の検証用システムへの実装試験を行った。b) 2DCM-web を改良し、同一耐性パターングループのリストと 2DCM マップ上の分離菌に対応するプロットを容易に結びつける方法の実装試験を行った。c) 2DCM-web の普及を図るため、学術集会、他の研究班と共催で、2DCM-web の実習ワークショップを 3 回開催した。

A. 研究目的

医療の高度化により、カテーテル挿入、抗菌薬投与による常在細菌叢破壊、腸蠕動/膀胱機能など生理的排除運動の障害などにより侵入門戸での防御を傷害された患者や、細胞性/液性免疫の障害を持つ易感染患者が、病院の中で増加し、それに伴って、日和見感染症が発生し増加した。

日和見感染症の原因となる日和見感染菌

は、非病原菌(弱毒菌)である常在菌や環境菌であり、これらは長時間医療施設内に存在する。医療施設には多くの易感染患者がいるために、高度医療の安全な実施のために抗菌薬が多用されているため、日和見感染菌の内、感性菌は淘汰され耐性菌だけが選択される。繰り返し抗菌薬に暴露されることで多剤耐性菌や高度耐性菌が選択される。

さらに、常在菌や環境菌には、感染症の原

因となっていない限り免疫による排除が起こらないため治療や予防のために抗菌薬が投与される度に、常在細菌叢や環境において確実に耐性菌の選択が進む。

このようにして、多剤耐性菌、高度耐性菌の選択は、高度医療の実施に伴って発生したものである。

菌の院内拡散は、外因性院内感染症の最初のステップであり、耐性菌の院内拡散にとっても、必須のステップで、抗菌薬による選択圧とともに、重要な因子である。さらに、耐性菌の院内拡散は抗菌薬による選択圧下に、常在細菌叢の耐性菌による置換の原因となり、内因性院内感染症の難治化因子である。また、菌の院内拡散自身が適切でない院内感染対策主義を反映しているものであり、アウトブレイクの危険因子でもある。

従って、今日の耐性菌時代の院内感染対策において、菌の院内拡散の制御は、抗菌薬の適正使用による選択圧の抑制とともに、重要な院内感染対策である。

ここで言う菌の院内拡散は、日和見感染症の原因となる、日常的に分離される常在菌や環境菌の院内拡散であり、分離そのものは異常ではない。さらに異常な分離であったとしても、菌自体が目に見えないために拡散を検出することは分離培養同定などの臨床細菌検査の結果に頼らなくては出来ない。

我々は、日常の分離菌(臨床細菌検査の結果)を、電算機を用いて詳細に解析することで、菌の院内拡散の異常を検出し、さらに、異常を可視化し、それらによって、院内感染対策を高精度化する方法について研究してきた。

本研究では、電算機を用いた解析をおこなうために必要な、標準化、新規アルゴリズムの開発、新技術の実装について研究を行っている。

B. 研究方法

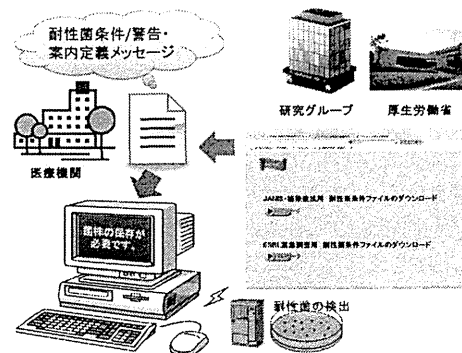
倫理面への配慮

本研究は、東海大学臨床研究審査委員会において「厚生労働省院内感染対策サーベイランス検査部門の精度向上及び効率化に関する研究」(12R-029号)、「院内感染対策の高精度化を目的とした電子システムの研究」

(12R-027号)の倫理審査を受け承認を受けた。

① 耐性菌条件/警告・案内定義メッセージファイルの定義、検討、実装試験

何らかの対応が必要な耐性菌が検出された場合に、検査機器、検査機器に接続されたデータ管理装置、さらに検査システム、病院システムなどにリアルタイムで、すべての医療機関において共通の警告を表示などさせることを目的としたメッセージの開発を行った。(運用イメージ:図1)耐性菌の条件、検出された場合の表示内容、管理上必要な情報などをメッセージファイルとして作成し、それを、各施設がダウンロード出来る様に厚生労働省、国立感染症研究所、あるいは、その他の行政機関、研究機関、研究団体などがホームページなどに掲示し、各医療機関ではそれらをダウンロードして、各装置、システムに読み込ませることで、耐性菌検出時に適当なメッセージが表示される様に、メッセージの設計を行い、その実証実験を行った。



(図1)耐性菌条件/警告・案内定義メッセージ運用イメージ
厚生労働省、研究グループなどが定義に則ったメッセージを作成しインターネットホームページなどで公開する。医療機関では、メッセージファイルをダウンロードし、メッセージに対応した検査システムなどに読み込ませる。定義ファイルに記載された耐性菌の条件(菌種、検査材料、耐性条件)に一致した耐性菌が検出されると、メッセージファイルに記載された、警告や案内(菌株保存や連絡等)がシステムの画面上に表示され、菌検出の水際での耐性菌への対処が標準化される。

「耐性菌条件/警告・案内定義メッセージファイル」(第2版)を平成25年度に開示し、JAHIS(保健医療福祉情報システム工業会)医療システム部会検査システム委員会、栄研化学(株)、アイテック阪急阪神(株)、日本ベクトン・ディッキンソン(株)、シーメンスヘルスケア・

ダイアグノスティクス(株)、オネスト(株)、日本ビオメリュー(株)、セーフマスター(株)、ケー・エス・ディー(株)に意見を求めた。

検査材料を条件に加えることによってメッセージの適用範囲が広がると考えこれを加え、さらに、実証システムへの実装を行う過程で、包括グループ名を項目に加えることが必要であることが明らかになったため、これらを加え、第3版とした。

② 細菌検査の精度維持、検体採取、検査、報告の標準化

JANIS 検査部門提出データ(調査表情報)を用いた研究を行うため、厚生労働大臣に申請を行い平成26年7月23日付けで提供の通知を受けた。

提出データを抽出、暗号化したファイルを受け取り、研究に必要な情報に限ってExcelなどで扱うことの出来るCSVファイルに変換を行った。変換作業には厚生労働省科学研究費補助金によって開発した、「CSV表分割 002a」、「File Merger 1.00d」、「data converter v400β」、および「項目展開 1.82」を用いた。

③ Σ -alert matrix の検証用システムへの実装試験、菌の確率的異常集積警告(PMA)簡易アルゴリズム(PMAL)による Σ -alert matrix 検証システムの構築

これまでの研究で菌の確率的異常集積警告(Probability-based Microbial Alert; PMA)によって菌の院内拡散、院内感染症アウトブレイクを適切に検出できること、PMAを用いた警告スコア累積(Σ -alert)によって院内感染対策の問題点を明らかに出来ることなどが分かっており、また、PMAによって2DCMの精度が向上することが分かっている。

PMAは、2項分布を用い、菌の分離に偏りが無いという帰無仮説を棄却することによって、菌の異常集積(院内拡散)を証明、検出する方法である。

PMAは、菌の分離率(baseline rate)、細菌検査の対象となった患者数、そのうち、特定の菌種が分離された患者数が分かれば、簡単に計算を行うことができるが、一方で、すべての菌について、すべての病棟などのユニットにお

ける異常集積をもれなく検出するためには、毎日、すべての菌種について、ユニットごとに、さらに異なった集計期間(7日、14日、30日など)で集計を行う必要があり、相当の計算量になる。

PMAによる警告を指標化して月毎に累計した Σ -alertは、院内感染アウトブレイクを未然に防ぐ情報を与え、さらに2次元マトリクス(Σ -alert matrix)化することで年余にわたる感染対策の状態を俯瞰することを可能とする。 Σ -alert matrixは、これまでアルゴリズムに基づいて、Excelと手作業で作成して来た。これを自動化して実装を行った。

昨年度、実証用システム(Tokai SHIPL)に Σ -alert matrixの実装を行った。これに、菌種ごとに検査材料別の分離率を同時に表示する仕組み、指定した期間のPMA警告値の合計によって菌種を並び替える仕組みを加えた。

Σ -alert matrixは、感染対策地域連携などで連携する施設がお互いの状況を俯瞰するのに利用できる。現行のアルゴリズムでは、PMAを算出できるシステムを保有する施設でのみ利用可能であるが、地域連携などで利用するとすれば、JANISなどの全国サーベイランスでPMA、 Σ -alert、 Σ -alert matrixの情報を与えることが適当である。

JANISなどの全国サーベイランスでこれらの情報を与えるためには、PMA算出の計算量を減量することが必須である。

平成24年度の研究で、毎日、異なった集計期間で集計を行う代わりに、週一回、木曜日にだけ、14日間で集計を行うことで計算量が20分の一程度に減らせ、ある程度の感度を持たせることが出来ることが分かった。さらに、平成25年度の研究で、対数スコアを用い確率的によりまれな現象については、より高いスコアを与えると、検体数の少ない施設でも一定の感度が得られることを明らかにした。

本年度は、PMALによる Σ -alert matrix検証システムの構築を行った。

④ 耐性を反映したカラーコードによる2DCMの実装試験

現在用いられている2DCM、2DCM-webのカラーコードは、感受性試験の結果を自動分

類した際に、グループとして得られた順に付けられた番号に、コンピュータの画面上見分けやすい色のセットを対応させている。

耐性度の高い菌株は、院内感染時に難治化の原因となる。また、これまでの研究で、耐性度の高い株は、集積のある株とともに、2DCM での菌株識別と分子疫学的検証が良く一致することが分かっており、耐性度の高い株を 2DCM 上の色で見分けられるようにすることは有用であると考えた。

耐性度の高い菌株に寄り目立つカラーコードを与える方法について検討し、検証システムへの実装、動作試験を行い、さらに改良を行った。

⑤ 2DCM-web の改良/普及

2DCM には、同一の耐性パターングループに属する菌株を一覧表にしてみせる仕組みがある。リストは、患者 ID、病棟、検体提出日などで自由に並び替えが出来、これによって、同一菌株の分離を時系列で整理するなどの方法をとることが出来る。現在、2DCM-web では、リスト上の菌株をマップ画面上の情報と結びつけるためには、病棟、検体提出日、IDなどを頼りに手作業で探す必要がある。

今回、リスト上の菌株と 2DCM のマップ画面を、直接結びつける方法を検討した。

耐性菌条件/警告・案内定義メッセージを用いた菌グループによる 2DCM 表示を可能にする方法を検討した。

2DCM-web の普及を図るため、第 89 回北海道医学検査学会、第 26 回日本臨床微生物学会総会/学術集会、において、1)同学会総会・学術集会、2)群馬大学文部科学省特別プロジェクト事業「多剤耐性菌制御のための薬剤耐性菌研究者育成と細菌学的専門教育」(群馬大学・国立感染症研究所・名古屋大学・東海大学)、3)厚生労働科学研究費補助金新型コロナウイルス等新興・再興感染症研究事業「医療機関における感染制御に関する研究」(研究代表者 八木哲也)と本研究の共催で、2DCM-web の実習ワークショップを実施した。

第 30 回日本環境感染学会総会/学術集会でも同様の WS を行う予定である(報告書作成時点)。

C. 研究結果

① 耐性菌条件/警告・案内定義メッセージファイルの定義、検討、実装試験

第2版に対する意見収集では内容についての指摘はなく、HL7 など標準メッセージ化を助言された。実装を行う各社に個別に意見を求めたところ、現時点では、CSV による通信とし、将来的に HL7 などを考えたいという意見が多かったため、現状のまま、CSV で定義を行うことにした。

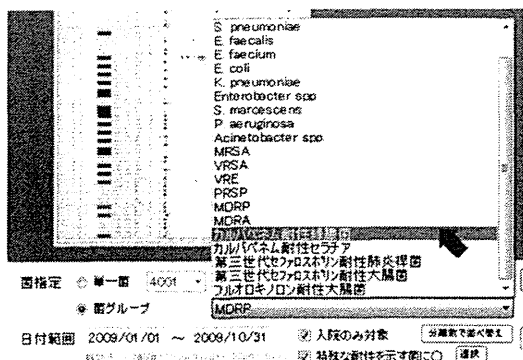
検査材料を条件に加えることが出来ると、適用範囲が広がることを考え、これを条件定義に加えた。

実装時に包括定義について、例えば、緑膿菌であっても、多剤耐性緑膿菌とカルバペネム耐性緑膿菌、多剤耐性緑膿菌と[カルバペネム耐性緑膿菌+フルオロキノロン耐性緑膿菌]の包含関係など複数のものが関連することがあるために、これらをグループ管理する方法が必要となり、これを、包括グループ名として定義に加えた(図 2)。



(図2)耐性菌条件/警告・案内定義メッセージ定義書(Ver.3.0) 包括定義に包括グループを加えた。条件定義に検査材料を加えた。

検証用システムに読み込みの機能を作成した(図 3)。包括条件を含む入力インターフェイス、感染対策システムでの実証試験を年度内



(図3)メッセージ利用部分の実証用システムへの組み込み
2DCM-webのコンポーネントを利用した実証システムに組み込み
メッセージ利用可能が確認した。年度内に感染対策システム
の組み込み試験、メッセージ作成インターフェイスを作成検
証する。

に予定している。

② 細菌検査の精度維持、検体採取、検査、
報告の標準化

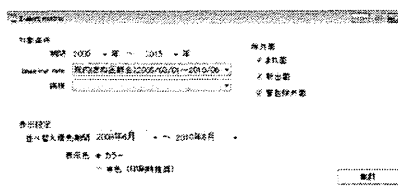
平成 25 年 7 月に高度暗号化および圧縮し
たデータを受け取った。

2013 年 1 月～2014 年 7 月までのデータ、
提出レコード数 12,384,867 件、変換後菌レ
コード数 10,056,840 件を表計算ソフトで利用可
能なデータに変換する作業を行い、予め大臣
に届け出を行った研究者に配付した。

臨床検査技師グループにおいて機種間差
などの詳細な集計が行われた。

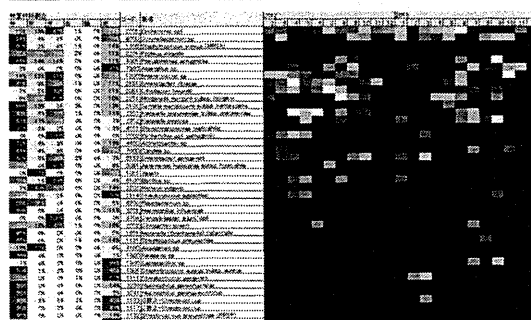
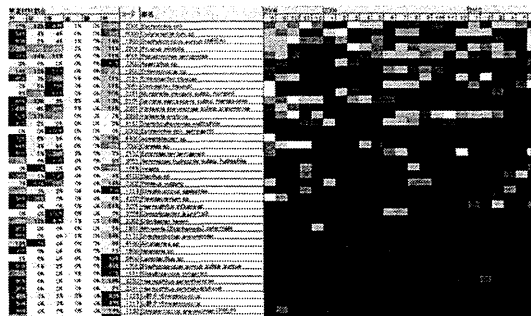
③ Σ -alert matrix の検証用システムへの実
装試験、菌の確率的異常集積警告(PMA)
簡易アルゴリズム(PMAL)による Σ -alert
matrix 検証システムの構築

実証用システム(Tokai SHIPL)に Σ -alert
matrix の改良実装を行った。本改良では、1)
それぞれの菌種の検査材料別分離割合をパー
セントとグレイスケールで表示し、また、任意
期間のPMA 警告レベル(スコア)の合計による
並べ替えを可能にしたために、確率的な異常
集積(院内拡散)の状況を俯瞰出来るだけで
なく、異常集積(院内拡散)を繰り返している菌
種について、良く分離される検査材料を知るこ
とによって感染経路、感染対策のヒントをえるこ
とができる(図 4-a, -b)。



検査材料割合	種	検	種	コード	菌名	2012	2013	2014
100%	35%	100%	1%	05-1000	2308 Klebsiella coli			
94%	4%	4%	0%	05-1000	4038 Stenococcus sp			
87%	2%	4%	1%	05-104	1523 Stenococcus aureus (MRSA)			
82%	14%	31%	0%	05-111	4091 Proteus mirabilis			
79%	0%	0%	0%	05-100	4091 Pseudomonas aeruginosa			
78%	0%	0%	0%	05-100	2309 Klebsiella sp			
76%	1%	0%	0%	05-100	12045 Enterococcus sp			
75%	3%	20%	1%	05-111	2151 Enterobacter cloacae			
7%	3%	70%	0%	05-111	4051 Stenobacter freundii			
8%	1%	0%	0%	05-104	2251 Morganella morganii subsp. morganii			
6%	10%	3%	3%	05-104	2131 Serratia marcescens subsp. marcescens			
4%	4%	0%	0%	05-100	2308 Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae			
5%	1%	0%	0%	05-100	2000 Staphylococcus aureus			
0%	2%	2%	0%	05-100	4151 Streptococcus maltophilia			
0%	0%	100%	0%	05-100	2000 Escherichia coli enterohemorrhagica			
7%	0%	3%	0%	05-104	4400 Acinetobacter sp			
4%	4%	0%	0%	05-100	2309 Klebsiella sp			
0%	5%	0%	0%	05-100	2150 Enterobacter aerogenes			
0%	0%	0%	0%	05-100	3051 Aeromonas hydrophila subsp. hydrophila			
0%	70%	0%	0%	05-100	1015 Yeasts			
0%	1%	0%	0%	05-100	8100 Bacillus sp			
7%	4%	0%	0%	05-100	2200 Proteus vulgaris			

(図4-a) Σ -alert matrix 実装システム
PMA警告レベル合計による並び替え(任意期間)(上段)と検
査材料別の分離割合の表示(中段)を機能に加えた。中段は
10年分の菌の確率的異常集積(院内拡散)の状況を示す。



(図4-b) Σ -alert matrix 実装システムの出力(部分)
上段は、図の左側近傍で強いシグナルを示す菌種が呼吸器
由来検体に多いこと、下段は同様の菌種が便由来検体に多
いことが分かり、感染経路の推測に役立つ。

平成 24 年度の研究で、スケールを自動調
整することで、木曜日のみ 14 日間の集計でも、
オリジナルの「連日、7 日間 14 日間 30 日間の
観察幅で」計算を行った場合と類似のデータ

を得られることが分かった。

さらに、検体数の少ない小さな病院で粒度が下がることを防ぐために、問題にする必要がある菌の院内拡散では、PMA でより小さな確率を取る、つまり、スポラディックな分離であるという確率 (p 値) がより小さくなることが多いことを利用し、従来、 p 値 < 0.01 で 1, p 値 < 0.005 で 2, p 値 < 0.001 で 3 をスコアとして与えていたものをより確率が低い場合には、より大きな数字が与えられる様に、

$$-\log_{10} p - 1$$

をスコアとして利用することを考えた (p 値が 0.01 だと 1, 0.001 で 2 だが、例えば、0.00001 であれば 4 が与えられる。)。この方法を用いると、 Σ alert matrix でより現法に近い結果が得られることが分かった (平成 25 年度)。

本年度は、これらの成果を実装したシステムの構築を終え、年度内に、実証システムの検証を終える予定である (報告書作成時点)。

④ 耐性度を反映したカラーコードによる 2DCM の実装試験

2DCM では感受性パターンを分類したグループに対してカラーコードを与えている。このため、耐性度を反映したカラーコードも、そのグループの特徴を示している抗菌薬の感受性を利用する必要がある。そこで、分類基準の薬剤から、S以外の率 (NSR: Non-S-Rate) を求めることにした (図 5)。

グループ番号: **7**

系統	抗菌薬	感受性	分類基準
ピロリチン系	1101-AZT	R	R or I or 未検査
ペニシリン系	1266-PIPC	S	S
ペニシリン系	1281-SBT/ABPC	R	R
カルバペネム系	1401-IPM/CS	S	S or I or 未検査
セフェム系	1656-CTX	R	R or I or 未検査
セフェム系	1661-CAZ	S	S
アミノグリコシド系	1816-AMK	S	S
アミノグリコシド系	1821-GM	S	S or I or 未検査
テトラサイクリン系	2121-MINO	R	R or I or 未検査
フルオロキノロン系	2516-LVFX	S	S
サルファ薬	2726-ST	R	R

分類基準:対象グループのグループ分けの判定基準です。

(図5) Non-S-Rateの算出

感受性パターン分類グループに対して耐性度の評価を行うため、耐性度は分類基準に現れている抗菌薬のS以外の率によって求めた。上の例であると、感受性検査の結果からはS以外の率は、5/11であるが、分類基準から求めた5/10をこのグループの耐性度としている。

カラーコードは、一般的なコンピュータの画面上で一つのコードを他のコードから見やすくするために選んだもので、現行では 26 色を用いている。ヒートマップのような配色を用いると耐性度の表示はし易くなるが、グループの見分けが付きにくくなると考え、その対策として、現行のカラーコードを視覚的に強く感じるであろう順に並べ、これを対応させることにした (図 6)。

#	R	G	B	NSR rank
0	0	0	0	0
1	0	0	180	1
2	0	0	255	2
3	0	180	0	3
4	0	180	180	4
5	0	180	255	5
6	0	255	0	6
7	0	255	180	7
8	0	255	255	8
9	200	0	0	9
10	200	0	180	10
11	200	0	255	11
12	200	180	0	12
13	200	180	180	13
14	200	180	255	14
15	200	255	0	15
16	200	255	180	16
17	200	255	255	17
18	255	0	0	18
19	255	0	180	19
20	255	0	255	20
21	255	180	0	21
22	255	180	180	22
23	255	180	255	23
24	255	255	0	24
25	255	255	180	25
26	255	255	255	26

(図6) カラーコードの並べ替え

現行のカラーコード(左)を、視覚的に強く感じるであろう色の順に並べ替え(右)、Non-S-Rate(NSR)に基づいて色を割り当てることにした。グループ数が26未満の時は、NSR rankの1~26の間を開けて振り当て、より区別が付きやすくなるように配慮した。

アウトブレイクの事例と比較すると、院内拡散をした株の耐性度が高いことが分かる (図 7)。耐性度の高いものからグループ番号を振るようになった。これまでの、時間、場所、患者、菌株に加えて耐性度も一枚のチャート上で視覚的に把握出来るとともに文字でも確認が出来るようになった。

⑥ 2DCM-web の改良/普及

2DCM-web に機能を追加する検討および普及のためのワークショップの開催を行った。

新しい機能として同一感受性パターングループ株リストの行を選択すると、2DCM マップ上で、該当する菌株に対応する部分がハイライトされる機能 (図 8) を加えた。同リストはリスト上の任意の項目で並び替えを自由に行うことが出来るので、病院、病棟、診療科、あるいは個人での時系列の分離状況をマップに戻ってみる事が出来ると、拡散状況の把握に役立つ。さらに、耐性菌条件/警告・案内定義メッセージを用いた菌グループによる 2DCM 表示を