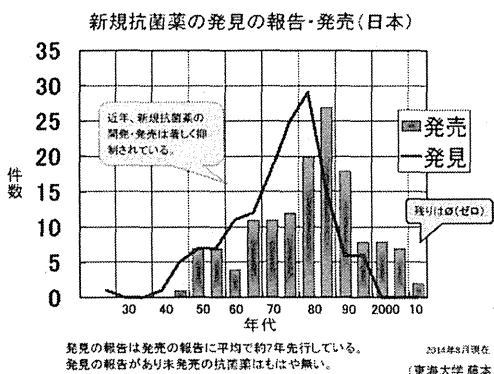


影で日和見感染症の原因となる常在菌、環境菌の中で耐性菌の選択が発生する。

高度医療が生体防御能の障害を生む医療であるかぎり、高度医療の安全な実施と抗菌薬の使用は不可分の関係にあり、同時に、多剤耐性菌、高度耐性菌による日和見感染症、院内感染症とも不可分の関係にある。

さらに、高度医療の対象となっている患者の多くは、一時的であれ、看護、介助、介護の対象となることが殆どであり、多くの医療従事者に「触れられる」立場であることも、院内感染症のリスクを増加させる。

高度医療と耐性菌による日和見感染症・院内感染症が不可分の関係にあり、高度医療を安全に実施するためには、有効な抗菌薬が不可欠であるが、近年、抗菌薬の開発は著しく低調で、有効な抗菌薬が枯渇している(図1)。



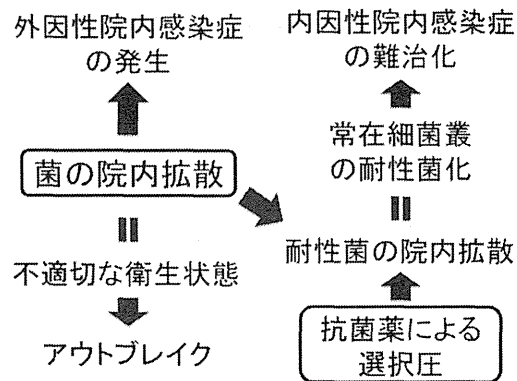
(図1)新規抗菌薬の発見・報告(2014年8月現在)  
最新「抗菌薬」一覧表 2004~2014年 (Medicament News (株) ライフ・サイエンス監修)と各製薬会社広報をもとに東海大学藤本作成。抗菌薬の開発は著しく低調であり、有効な抗菌薬の枯渇を来している。

今日までに、抗菌薬に対する耐性菌の発生を完全に防ぐ方法は知られていない。有効な抗菌薬が枯渇している現状では、高度医療の安全な実施を継続するために、抗菌薬開発の促進も必須であるが、同時に、生体防御能の障害を制御、耐性菌拡散の制御および耐性菌による院内感染症の制御が必要である。

われわれは、耐性菌による院内感染症の抑止(制御)めざして研究を進めてきた。

菌の院内拡散は、不適切な院内感染対策手技を反映しているために、院内感染症アウトブレイクの危険因子である。同時に、内因性院

内感染症、耐性菌拡散の最初のステップであり、耐性菌拡散を介して内因性院内感染症の



(図2)菌の院内拡散と耐性菌による院内感染症  
菌の院内拡散と抗菌薬による選択圧は、耐性菌による院内感染症において、中心的な役割を果たしている。  
藤本修平、化学療法の領域 2014;30: 224(1108)-238(1122).

重症化にも働く。このため、菌の院内拡散の抑制は、耐性菌による院内感染症制御において抗菌薬の適正使用による選択圧の軽減とともにもっとも重要な要素である(図2)。

日和見感染症の原因菌は、常在菌や環境菌であるために、分離されただけでは異常とは言えないが、菌の院内拡散があれば、問題ということになる。菌は目に見えないために菌の院内拡散の検出は難しそうに見えるが、細菌検査を行えば目で見る事が出来る。菌の院内拡散の調査のために細菌培養をすることは、新たな作業を生むことになるが、日常の細菌検査の結果から異常を見出すことが出来れば、新たな検査は発生しない。

本研究では、日常の細菌検査の結果を活用して、菌の院内拡散の早期発見、可視化(見える化)を実現する方法の開発、実装、普及をおこなった。

## B. 研究方法

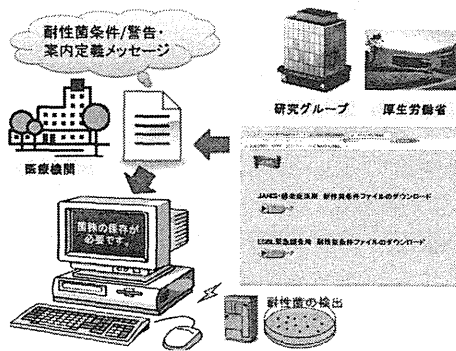
### 倫理面への配慮

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の開発、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、病院情報システムなどから、リアルタイムで再検査、菌株の保存、調査の依頼、院内感染対策などについて標準化された適切な警告、案内が当該装置から発信されるように、メッセージファイルの標準化を図った。

将来的に、メッセージファイルを厚生労働省、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公開し、これを、検査機器、検査機器に接続されたデータ管理装置、病院情報システムなどが読み込んで、必要な動作を行うことを想定してメッセージの開発を行った(図3)。



(図3)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、菌検出の水際の耐性菌への対処が標準化される。

メッセージの定義、公開、意見集約、改訂をへて最終的に実装試験を行った。

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 25 年 2 月 14 日付け、および、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り 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 v400 β」、および「項目展開 1.82」を用いた。

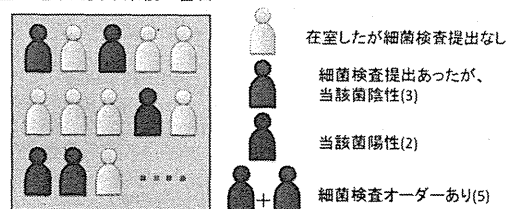
③菌の確率的異常集積警告(PMA)簡易アルゴリズム(PMAL)の開発、PMAL による  $\Sigma$ -alert matrix 検証システムの構築、 $\Sigma$ -alert matrix の検証用システムへの実装試験

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 ( $\Sigma$ -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(Probability-based Microbial Alert)  
菌の確率的異常集積の警告



人為的な集積が無いと仮定すると、このような菌の分離が発生する確率を計算できる。計算された確率が十分に低い場合、仮定(帰無仮説)は棄却され、人為的な集積と判断できる。

$$P_{m \geq k} = \sum_{m=k}^n {}_n C_m p^m (1-p)^{n-m}$$

$n =$   $k =$    
 $p =$  baseline rate

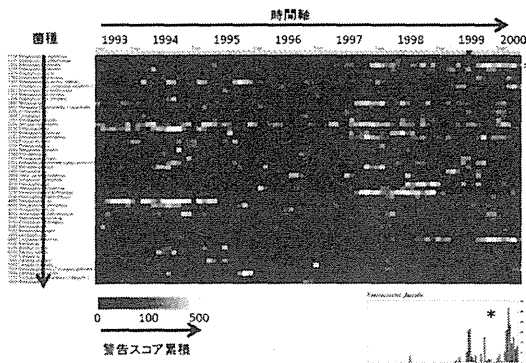
(図4)菌の確率的異常集積の警告  
菌の分離がsporadicである(異常集積がない)という帰無仮説に基づき、検査提出患者数、当該菌陽性患者数、その菌の分離される確率(患者一人あたりの陽性率)から、このような菌の分離が発生する確率を計算し、その確率が低い場合、帰無仮説を棄却する、すなわち、異常集積があると判断する。確実にを行うためには、毎日、全病棟の全菌種に対して、異なった観察幅(例; 7日、14日、30日)で確率を計算する必要があり、相当量の電算処理が発生する。

(図 4)。

PMA による警告を指標化して月毎に累計した  $\Sigma$ -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 ( $\Sigma$ -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。

実証用システム (Tokai SHIPL) に  $\Sigma$ -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。

$\Sigma$ -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 (図 5)。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,  $\Sigma$ -alert,  $\Sigma$ -alert matrix の情報を与えることが適当である。



(図5) 警告スコア累積カラーマトリクス  $\Sigma$ -alert matrix (モノクロ版)

横軸は時間、縦軸は菌種を示している。四角の色はその菌のその月のPMAの警告スコアの累積に対するカラースケールであり、 $\Sigma$ -alertの棒グラフの高さをカラースケール化したものである。右下の $\Sigma$ -alertの図に対応する行に\*印を付した。この図では、カラースケールの代わりにグレイスケールを用いている。この例では、1995年の中頃から1997年前半にかけて一時的に菌の院内拡散が減少している(白い部分が減っている)事が分かるが、この施設では、病棟の増築工事を1994年の12月から1996年の4月まで行い、一時的に入院患者数を制限していたことが分かっている。それ以外の期間は明るい部分が多く相当数の院内拡散があることが分かる。

藤本修平、化学療法の領域 2014;30: 224(1108)-238(1122)。

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。

警告の粒度をなるべく落とさずに、計算量を大幅に減らす方法を検討した。さらに、PMAL による  $\Sigma$ -alert matrix 検証システムの構築を

行った。

$\Sigma$ -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。

#### ④耐性を反映したカラーコードによる 2DCM の開発と実装試験

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、耐性の高い株を 2DCM 上の色で見分けるようにすることは有用であると考えた。

耐性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。

#### ⑤2DCM-web の改良/普及

JANIS に実装された 2DCM-web の利用状況の把握および epi-curve 集計期間の検討を行った。専用の検討用プログラムを作成し、試験用データで集計を行って検討した。さらに、特定の耐性菌を明示化する機能を追加した。

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 25 回日本臨床微生物学会総会/学術集会、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インフルエンザ等新興・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。

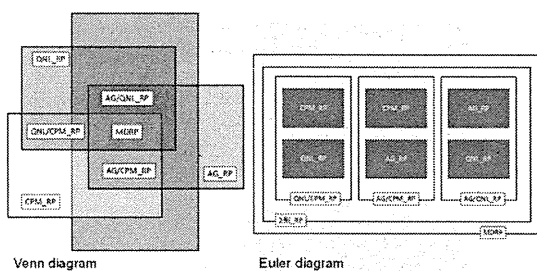
第 30 回日本環境感染学会総会/学術集会でも同様の WS を行う予定である(報告書作成時点)。

### 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の開発、実装試験

メッセージファイルの定義(仕様)について決定した。

耐性菌の包含関係をどの様のメッセージと



stacked block diagram

耐性の組み合わせでどのような表示をするか指定する方法

CPM	AG	QNL	category1	category2	category3	category4
S	S	S	Sensitive P			
S	S	R	QNL_RP			
S	R	S	AG_RP			
S	R	R	QNL/AG_RP	CPM_RP	AG_RP	
R	S	S	CPM_RP			
R	S	R	CPM/QNL_RP	CPM_RP	QNL_RP	
R	R	S	CPM/AG_RP	CPM_RP	AG_RP	
R	R	R	MDRP	QNL/AG_RP	CPM/QNL_RP	CPM/AG_RP

(図6)耐性菌の包含関係を表現する方法の検討。

Euler図はすべての組み合わせを表現できるわけではない。

Venn図は包含関係を表現できない。

積み重ね型ブロック図はEuler図と同等となる。

耐性の組み合わせと表示を対応させる方法は、全ての包含関係を表現出来るが、包含関係を可視化出来ないために、条件に欠落が生じる可能性がある(全ての組み合わせを指定のことが困難)。

して定義し、さらに、その定義をどの様に可視化してインターフェイスを作成するかが問題となった。

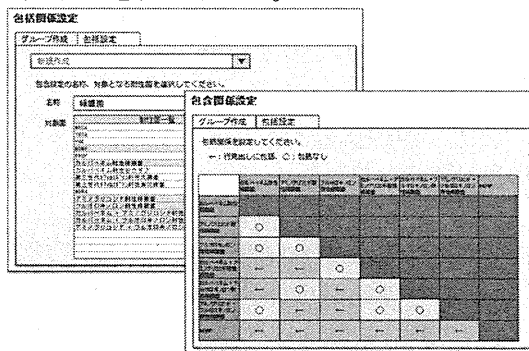
包含関係を表す既知の標準的な方法を検討したが、Venn diagram は、包含関係を表現できない。Euler diagram、stacked block diagram は、すべての組み合わせを表現できない。一方、耐性の組み合わせで表示する菌名を指定する方法では、包含関係を可視化できないという問題が発生することが分かった(図6)。

それぞれの耐性菌名を別個に定義した後、それらの耐性菌名の定義に重複して該当した場合にどちらかのあるいは、両方の耐性菌名を表示名として指定する方法を考えた。

この方法では、すべての包含関係をもれなく表し包含関係もある程度可視化できる。この方法を採用することにし、インターフェイスの試作を行った(図7)。

この検討の成果も入れて、耐性菌条件/警告・案内定義メッセージファイル定義書の初版を作成した。

平成 24 年度、「耐性菌条件/警告・案内定義メッセージファイル」(第 1 版)を開示し、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)、日本ピオメリュウ(株)、セーフマスター(株)、ケー・エス・ディー(株)に意見を求めた。また、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に対して直接説明を行い意見を求めた。



(図7)包含関係を指定するインターフェイスの試作

それぞれの耐性菌名を別個に定義した後、それらの耐性菌名の定義に重複して該当した場合にどちらかのあるいは、両方の耐性菌名を表示名として指定する方法。組み合わせに落ちが無く、包含関係も可視化できる。

集められた意見を集約して、第2版を作成し、同じ会社、機関に意見を求めた。

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。

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。

最終的に、第3版(別添資料)を作成し、これをもとに読み込み実証システム(2システム、うち1システム実証支援済み(図16))、作成システム(2システム)を年度内に完成し実証試験を行う(報告書作成時点。)

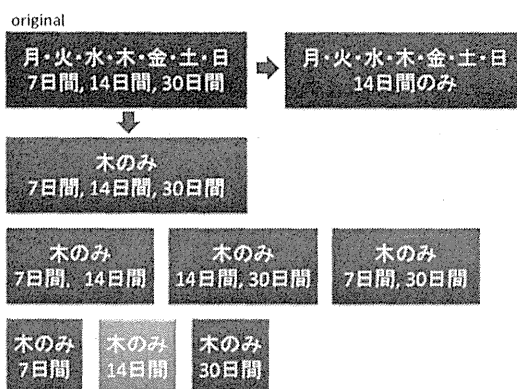
### ②細菌検査の精度維持、検体採取、検査、報告の標準化

2009年1月～2013年2月のデータ、(提出レコード数24,827,781件)。2013年1月～2014年7月までのデータ(提出レコード数12,384,86件、変換後菌レコード数10,056,840件)をそれぞれExcelなどで処理可能なCSVファイルに変換し、臨床技師会グループでの処理に提供した。

さらに、耐性菌検査について、実施している薬剤の調査を行った。

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

効率的に計算ステップを減らすため、現行の全ユニットに対して、「連日、7日間14日間

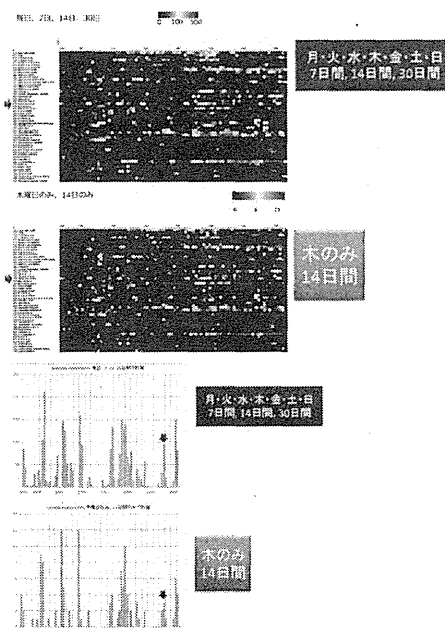


(図8) PMAL処理手順の開発

週7日、それぞれ、7日間、14日間、30日間で計算する原法(PMA; Probability-based Microbial Alert)に対して、集計期間、集計日を減らした処理手順を用い、電算処理負担の軽減を図ったPMA light version (PMAL)の開発を行った。最終的に、木曜日のみ、14日間だけの処理で一定の検出が可能であることが分かった。

30日間の観察幅で計算を行う方法を、観察幅を14日間のみ、週の内木曜日のみ、さらに、木曜日のみ+特定の観察幅でのみ計算を行う方法を簡易アルゴリズムの候補とし(図8)、それぞれから得られるデータを比較した。

カラスケールの標準化などを行い、最終的に、木曜日のみ14日間観察幅のみの簡易アルゴリズムでも、アウトブレイクも、アウトブレイク以前の院内拡散も良く検出できることが分かった(図9)。

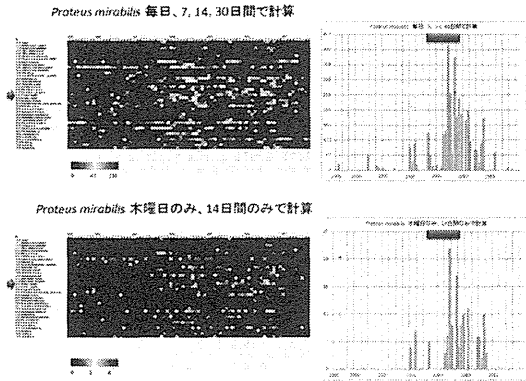


矢印の部分でSerratia marcescensのアウトブレイクがあった。

(図9) 木曜日14日間だけの集計

一定数の検体提出のある施設ではこの方法で対応できることが分かった。

小病院では検査数が少ないため、集計を簡易化すると問題の見落としに結びつく可能性があるため。小病院(120床)のデータを検討した。検討を行った病院では *Proteus mirabilis* のアウトブレイクを経験している。アウトブレイクは検出できるが、originalの方法に比べて粒度が不十分となることが分かった(図



(図10) 検体数の少ない施設の木曜日14日間だけの集計  
病院規模が小さく検体数の少ない施設では、粒度が不十分になることが分かった。

10)。

問題となる様なアウトブレイクでは、一定期間、菌の院内拡散が続く。そのため、異なった集計期間で、毎日集計を行うことで、菌の院内拡散が繰り返し検出され、 $\Sigma$  alert が大きな値を取るが、週に一回、14日間だけの集計では、繰り返しの回数が少なく値が小さくなってしま

う。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。従来は、 $p$  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る。

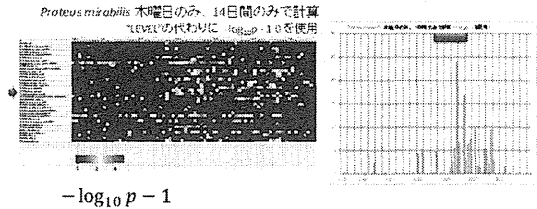
そこで、より確率が低い場合には、より大きな数字が与えられる様に、

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

をスコアとして利用した。この方法を用いると、 $\Sigma$ -alert matrix でより現法に近い結果が得られる(図 11)。

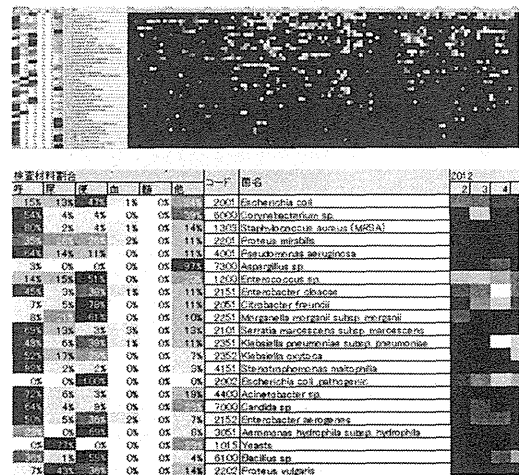
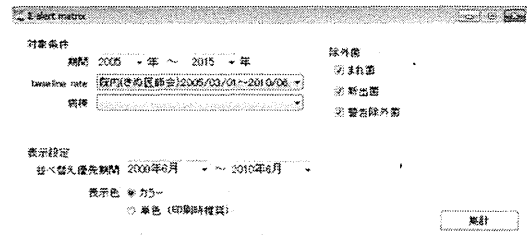
[ $\Sigma$ -alert matrix 実装]これまでアルゴリズムに基づいて Excel を用いて手作業で作成していた  $\Sigma$ -alert matrix を実証用システム(Tokai

SHIPL)に実装した  $\Sigma$ -alert matrix の改良実装を行った。本実装では、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)の合計による並び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 12-a,

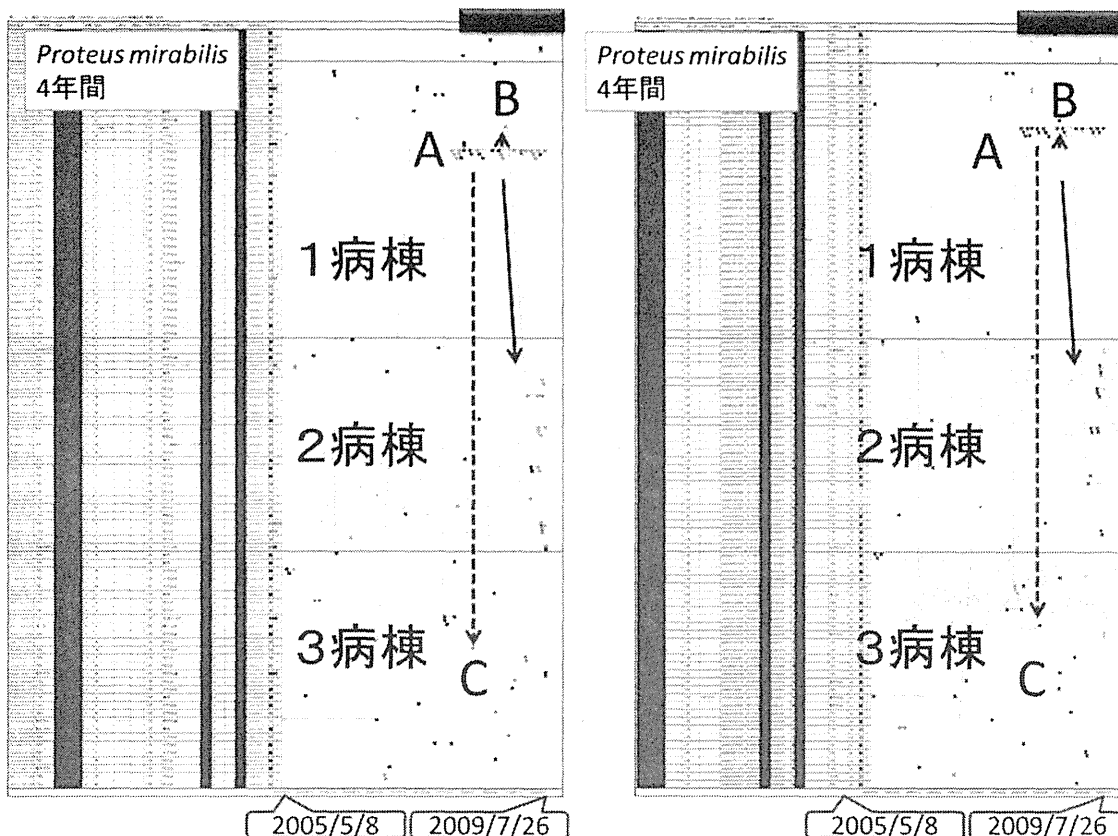


(図11) 対数スコアを用いた、検体数の少ない施設の木曜日14日間だけの集計  
 $p$  値 $<0.01$  で1,  $p$  値 $<0.005$  で2,  $p$  値 $<0.001$  で3のスコア代わりに、対数を用いたスコアを用いることで原法に近い結果を得ることが出来る。

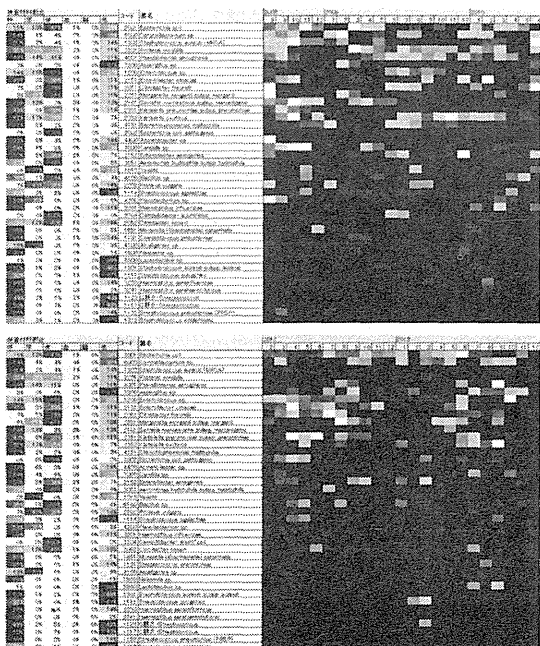
-b)。



(図12-a)  $\Sigma$ -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13) 現行カラーコードと耐性度カラーコードの比較  
 現行カラーコード(左)によって特定菌株の拡散が理解出来るが、耐性度カラーコード(右)ではさらに、菌株の耐性度が分かり、より危険な拡散を視覚的にとらえることが出来るようになっている。



(図12-b) S-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。

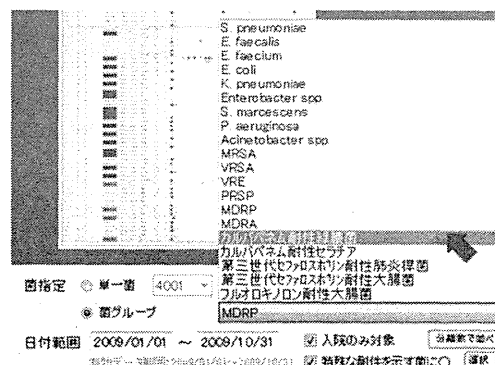
④耐性度を反映したカラーコードによる 2DCM

の開発と実装試験

2DCM において、耐性度の高い菌に対して、より目立つカラーコードを与え、より危険な菌の拡散を明示化する機能を加えた(図 13)(平成 26 年度分担研究報告書に詳細を記載)。2DCM では、耐性菌の拡散ではより菌株の分別能が上がる事が分かっているため、この機能は、分別能の高い株を明示化する効果もある。

⑤2DCM-web の改良/普及

【epi-curve 集計期間の多様化/指定耐性菌の明示化】epi-curve の集計期間について、7 日間、14 日間、28 日間を比較した。実際の事例では、デ



(図16) 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-webの表示

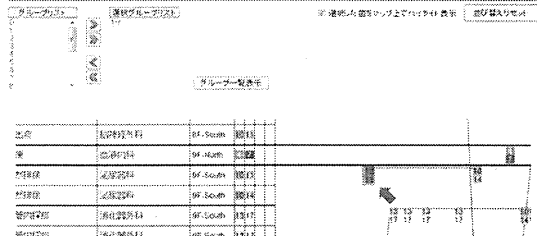
ータの数、アウトブレイクの性格などから、7日間、14日間、28日間それぞれに検出出来る事象に特徴があることが分かったため、集計期間を選択できるようにすることが適当と結論し、切り替え可能なインターフェイスを試作した。また、MDRP などの特定の耐性菌に対応する2DCM-web マップ上の四角に丸を付ける(VRSAなど検出が非常に危険なものには×付ける)機能を持たせた(図 14)。

【感受性パターングループからの2DCM マップへのジャンプ機能】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 15)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。拡散状況の把握に役立つ。

【菌グループ表示】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 表示を可能にした(図 16)。複数菌種に渡る検索も可能になるため、マップ上に菌名を表示することが必要になった。右クリックで表示されるダイアログボックスに菌名を表示する様にした(図 17)

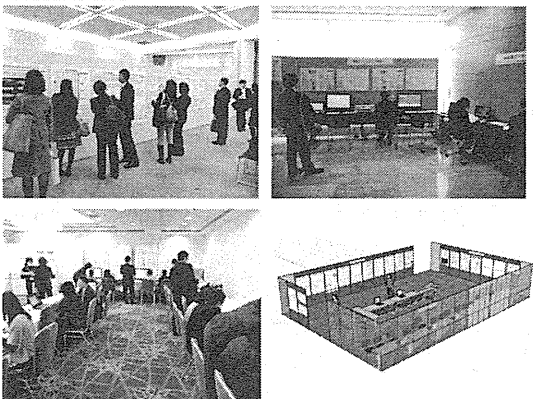
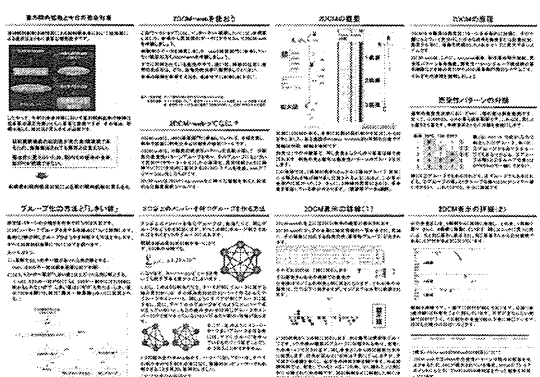
【2DCM-web 実習ワークショップの開催】

グループ番号	菌株番号	検出施設	科	科	科	性別	年齢	入院期間	検出
1313	2013100209	09-20131002	ICU	ICU	ICU	男	20081219	入院	検出
1313	2013101012	20131010	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013101007	20131010	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013101006	20131010	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013101005	20131010	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013101004	20131010	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013101003	20131010	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013101002	20131010	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013101001	20131010	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100909	20131009	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100908	20131009	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100907	20131009	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100906	20131009	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100905	20131009	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100904	20131009	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100903	20131009	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100902	20131009	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100901	20131009	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100809	20131008	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100808	20131008	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100807	20131008	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100806	20131008	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100805	20131008	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100804	20131008	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100803	20131008	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100802	20131008	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出
1313	2013100801	20131008	ICU	ICU	ICU	男	20081216	入院	検出



(図15)同一感受性パターングループ菌株リストからのジャンプ  
リストから行を選ぶと、当該菌株がマップ上で点滅ハイライトされ、図自体もその部分に移動する。現在、表部分の着色、さらにハイライト部の周りに丸を描画し、位置をよりわかりやすくする改良を行っている。

2DCM-web 実習ワークショップを、学会総会、他の研究班と共催で行った。



(図18)2DCM-web実習ワークショップ  
ポスターの一部(上段)、平成26年2月第25回日本臨床微生物学会総会(名古屋:写真左上)、平成26年9月第89回北海道医学検査学会(岩見沢:写真右上)、平成27年1月第26回日本臨床微生物学会総会(東京:写真左下)平成27年2月第30回日本環境感染学会総会(神戸:会場デザイン、2月20日(金)、21日(土)に実施予定)

100 m<sup>2</sup>程度の会場に、実習用システムをインストールしたパソコン7台、ディスプレイ、プリンターを用意して行った。毎回数名の臨床検査技師、医師が実習の指導に当たり、ポスターパネルによる詳細説明と実習システムによる実習を行った(図 18)。

D. 考察

高度医療の実施と耐性菌による日和見感染症・院内感染症は不可分の関係にあり、高度先生医療の安全な実施には、耐性菌による院内感染症の制御が不可欠である。

現在、耐性菌に有効な抗菌薬は枯渇しており、高度医療の安全な実施のためには、抗菌薬開発の促進とともに、耐性菌の拡散制御、耐性菌による院内感染制御、さらに、生体防御能の障害の制御が必要となっている。

われわれは、耐性菌による院内感染の制御



を目指し、そのために、日常の細菌検査の結果から、菌の院内拡散の早期発見、可視化を実現する方法について研究をしてきた。

本研究において3年間の成果として、耐性菌を細菌検査の水際で確実に補足するための方法として①耐性菌条件/警告・案内定義メッセージファイルの定義の開発、実装試験を行い、検査機器メーカー、標準化業界団体の同意の下に、標準化を図り、さらにその実用性について検証を行った。②細菌検査の精度維持、検体採取、検査、報告の標準化のために、JANIS 検査部門提出データの解析を臨床検査技師グループなどと協力して行った。菌の院内拡散の早期発見、拡散状況の評価、共通拡散経路の推測、対策立案のため、③確率的菌異常集積警告(PMA)簡易アルゴリズム(PMAL)の開発、PMALによる $\Sigma$ -alert matrix 検証システムの構築、 $\Sigma$ -alert matrix の検証用システムへの実装試験をおこない、JANIS 検査部門への実装を目指した。より危険性の高い菌の院内拡散を明示化する方法の1つとして、④耐性度を反映したカラーコードによる2DCMの開発と実装試験を行った。さらに、既にJANIS 検査部門に実装されている、⑤2DCM-webの改良/普及をおこなった。何れも、3年間を通して、研究(準備)、開発、検証を行い、実用化、あるいは、実用化の実証を行うことが出来た。

#### ①耐性菌条件/警告・案内定義メッセージファイルの定義の開発、実装試験

現在も、細菌検査機器、検査機器に接続されたデータ管理装置には特定の耐性菌が検出された場合に何らかの警告を行う機能が備わっているものが多い。しかし、設定されてなかったり、設定が更新されていない、警告機能が切られているなどの理由から、検出が問題となる耐性菌が見落とされる例が相当数存在する。また、個々の装置はそれぞれの機種に依存した耐性菌の定義方法を持っており、共通の定義方法は存在していない。

JANIS 検査部門に VRSA など、検出そのものが深刻な問題となる耐性菌が報告されることがあり、それに対して問い合わせをしても菌株の保存が行われていない例が多いことが問題とされている。

感染症法、JANIS 等では検出が問題となり

得る耐性菌の定義、呼称を公開して、検出された場合の届け出などの方法を定めているが、これらは、適宜、更新が行われており、警告機能を持った装置であっても、その定義ファイルを、担当の業者などがその都度書き換えて行く必要がある。

今回の定義ファイルは、菌種、耐性の条件、検査材料などの条件と、その条件に合致した菌が検出された場合に発せられる、警告、および案内を、その問題レベル(問題の深刻さによって、重要度1~5に分類)とともに定義を行うものである。

既に、検査機器メーカー、標準化業界団体(JAHIS)に一定の同意を得ており、実証試験完了後、必要な調整を行った後、説明会など適当な方法で公開を進める。

本研究では、耐性菌条件/警告・案内定義メッセージ定義書【Ver.3.0】の確定、これに基づいた読み込み試験用のインターフェイス2種(2DCM-webで利用できるもの、院内感染対策システム実証システム[Tokai SHIPL]に実装したもの)を作成するとともに、入力用のインターフェイスに関する研究を行い、研究成果にもとづいたインターフェイスを実装した、メッセージ作成インターフェイス2種([Tokai SHIPL]上で動作するもの、独立して動作し、機器メーカーへの提供や、JANIS 検査システムへの提供を予定するもの)を作成した。

メッセージが普及することにより、耐性菌の検出が確実に行われるようになるとともに、特定の耐性菌を求めた調査のデザインも容易になると考える。

同じメッセージは、2DCMでの菌グループ表示にも利用出来る様にした。これにより、2DCM(2DCM-web)で特定の耐性菌の拡がりだけを長期間にわたって調べることが可能になる。また、複数菌種の、作図も可能になり、検査材料を限定した作図も可能となる。前者は、腸内細菌科菌などで問題となっている、プラスミドを介し、同様の耐性パターンが複数菌種に拡がる様な事例の検索にも利用可能であると考えた。

#### ②細菌検査の精度維持、検体採取、検査、報告の標準化

JANIS 検査部門の提出データは、1ヶ月約

60万検体、約50万株にのぼる大規模データである。電子データとして標準化されているが、もととなる検体の採取方法、保存・輸送方法、検査方法、検査結果の報告の方法については標準化が不十分な部分が存在する。

JANISには、2011年現在でも、200～499床の施設の38%、500床～899床で71%、900床～で73%の医療機関が参加しており(JANIS\_newsletter\_extra\_201309.pdf)、その多くが検査部門に参加していること、病院規模の大きい施設の方がより多くの細菌検査を提出していることが予測できること、日本の総病院数は8,500程度(2011年)であること、そのうち200床以上が2,500程度であることを、2011年のJANIS参加医療機関数が全部門で950程度、検査部門で650程度(2014年末では1,300程度、検査部門で900程度)であったことを考えると、JANIS検査部門は施設数で全病院の10%、検体数では日本の病院で検査される検体の40%以上の検体のデータを収集していると予測できる。

日本の病院で検査される検査の一定数の検査結果が収集されている場合、検査値の母集団から外れる測定値には、何らかの意味がある可能性が高く、解析の継続が必要である。

JANIS検査部門のデータフォーマットは固定長のデータからなる固定長のレコードで、レコード区切り以外に、区切り記号を含まないため、文字型データではあるが、可読性は低く、また、そのままでは、Excel®などの表計算ソフト、データベースソフトに読み込むことが出来ない。

われわれは、厚生労働科学研究費によって、JANIS検査部門の提出データなどの固定長データをカンマ区切りなどのCSVファイルに変換し、さらに、項目間を結びつけて、Excel®などで処理を可能にするための複数のツールを開発してきた。

本研究においても、これらのツールを活用し、データの処理を行い、解析に供した。

JANISのデータは、いわゆるビッグデータの1つとなり、今後も、多くの情報を提供するであろうが、もう一方で、平均値などの算出は容易であるが、データの特徴を捉えてその中に含まれる複数の因子の影響を考察するためには、

多くのデータの中からそのような特徴を見出す方法の検討が必要になる。

巨大データの中から、特徴のあるデータを取り出すための、あるいは、データの特徴を見出すための仕組みの開発が必要である。

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

PMA(Probability-based Microbial Alert)は、2項分布を用いた帰無仮説の棄却により菌がsporadicに分離されていることを否定し、異常な集積、epidemicな菌の分布があることを統計的に示すものである。

今回の研究では、これに基づいて導かれる $\Sigma$ -alert matrixの実装、専用の院内感染対策システムを用いなくても、PMA、PMAに基づく $\Sigma$ -alert、 $\Sigma$ -alert matrixを利用出来るように、計算量を減らした軽量版PMA light version; PMALのアルゴリズム開発、実証システムの作成を行った。

開発当初、JANISサーバーでの処理を想定していたが、JANISの大規模化、国際化など、サーバー負担の増大が予測されるため、2DCM-webのようなwebアプリケーションによって、処理を行うことを検討した。

処理対象のデータは、2DCM-webの場合と同じ、JANIS還元情報のCSVファイルを利用できる。ベースラインデータのローカルコンピューターへの保存などの工夫を行うことで、webアプリケーション化を可能にする方法で検証システムの開発を行った。

本方法は、確率的に問題となる菌の分離を指摘するだけの方法であるので、実際には問題となる菌の院内拡散以外のものを検出したり、あるいは、確率的には問題とならない問題を見落とす可能性があることを周知した上で、異常検出のツールとして公開することが可能であると考えた。

④耐性度を反映したカラーコードによる2DCMの開発と実装試験

2DCMは、時間-場所(病棟等)の2次元平面上に、感受性パターンのグループで色づけした菌株に対応する四角を表示する。これに、

患者動線、菌株の感受性グループを加えた 4 つの変数を 2 次元空間に展開している。

今回、菌株の耐性度の多寡を感受性グループの判定に用いた抗菌薬に対する感受性が S 以外のものの割合 (Non-S Rate; NSR) を指標にランク付けし、NSR が高いものから目立ちやすいカラーコードを与える仕組みを加えた。

これによって、2DCM は、5 つの変数を 2 次元空間に展開できるようになった。

抗菌薬による選択圧がある医療環境では、感性菌よりも耐性菌の方が選択されやすく、同じ様な操作が感性菌と耐性菌に対して施されている場合、感性菌だけが院内拡散をする可能性は低く、むしろ耐性菌が感性菌に較べて院内拡散をし易い。

耐性菌の院内拡散は、難治性の院内感染症の発生に結びつき、感性菌の拡散よりも直接重大な問題に結びつきやすい。

さらに、2DCM に特有の問題として、耐性のほとんど無い菌は、正しく分類できず、異なった菌株でも同じ菌株と判断される場合があり、無視してよいことが多い。

これらの理由から、2DCM において、耐性度を第 5 の変数として表示に導入することは有意義であると考えた。

過去のアウトブレイクについて、耐性度によるカラーコードを用いた 2DCM 解析を行うと、アウトブレイク前のスポラディックな株は一般に NSR が低く、アウトブレイク株は NSR が高いことが分かった。

2DCM-web に導入可能な方法で実証システムを開発しているため、モニター利用者の検証を経て、JANIS への実装を提案したい。

#### ⑤2DCM-web の改良/普及

2DCM-web の改良を目的に、複数の検討、開発を行った。epi-curve 機能の機能向上、特定の耐性菌の明示化機能については、既に実装済みで、利用者からは有用であるという評価を得ている。

同一感受性パターングループのり菌株リストは、同一株と予測できる株の経時的な分離状況、同一ユニット内での分離状況を表の形式

で一覧できるので有用であるが、一方、これと 2DCM-web のマップ上の情報を結びつける方法は、表の内容を頼りにマップ上を探す以外にはない。今回、リストの行を選択すると、マップ上の対応する部分がフラッシュする機能を持たせた。現在、さらにその部分を大きくマークする方法、マップ左側の菌株の属性表示領域にもマークする方法を検討している。有用な仕組みであるので、モニター利用者の検証を経た後、実装を行う予定である。

菌グループによる表示は、①の項で触れた様に、耐性菌条件/警告・案内定義メッセージを利用したものであるが、耐性菌に限らず、検査材料での絞り込み、MRSA と MSSA の同時表示などにも利用できる。ユーザーによる耐性菌条件/警告・案内定義メッセージの作成が出来るようになると利用価値が広がるので、同メッセージ作成のための独立した入力インターフェイスの web アプリケーション化も同時に進める予定である。モニター利用者の検証を経た後、実装したい。

#### [2DCM-web の実習ワークショップの実施]

すでに、3 つの学会総会でワークショップを実施した。毎回、ワークショップの能力一杯までの実習者を得ており、経験者からはすぐに利用したいという感想を得ている。また、後から開かれたワークショップでは、実際に有用で、日常的に利用していると言う声も多く聞いた。ワークショップの開催は一定の成果を上げたと考えた。

ワークショップで、JANIS 参加について、あるいは具体的にデータ提出の方法を見せて欲しいといった問い合わせ、要望も多くあり、コーディネータ(ファシリテータ)がこれに対応した。

JANIS について、パソコンを前に理解をする機会が無い場合、2DCM-web の実習と合わせて、JANIS についてパソコンを利用して理解する機会を設けること、あるいは、2DCM-web ワークショップがそのような役割を兼ねて行くことが必要であると考えた。

適当な方法で、同様の普及活動を続けて行くことが好ましいと考えた。

#### E. 結論

3 年間の研究により、1)耐性菌条件/警告・

案内定義メッセージファイルの定義の開発、実装試験、2) 菌の確率的異常集積警告 (PMA) 簡易アルゴリズム (PMAL) の開発、3) PMAL による  $\Sigma$ -alert matrix 検証システムの構築、4)  $\Sigma$ -alert matrix の検証用システムへの実装試験、5) 耐性度を反映したカラーコードによる 2DCM の開発と実装試験、6) 2DCM-web の改良/普及、7) 細菌検査の精度維持、検体採取、検査、報告の標準化の基礎資料の作成を行った。

これらの成果は、JANIS への実装などを通して、菌の院内拡散の可視化を促し、耐性菌による院内感染症の制御をシステム上から支える仕組みになると考えた。

## F. 健康危機情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

○ Nomura, T, Tanimoto, K, Shibayama, K, Arakawa, Y, Fujimoto, S, Ike, Y, and Tomita, H. "Identification of VanN-type vancomycin resistance in an *Enterococcus faecium* isolate from chicken meat in Japan.", (2012) Antimicrob Agents Chemother, 56, 6389-92;

○ Inamasu T, Sudo K, Kato S, Deguchi H, Ichikawa M, Shimizu T, Maeda T, Fujimoto S, Takebayashi T, Saito T. Pandemic influenza virus surveillance, Izu-Oshima Island, Japan. Emerg Infect Dis, 2012; 18: 1882-5.

○ D. Minh Nguyen, Hiroshi Deguchi, Manabu Ichikawa, Tomoya Saito, and Shuhei Fujimoto "An Analysis on Risk of Influenza-Like Illness Infection in a Hospital Using Agent-Based Simulation.", (2014) Public Health Frontier, 3, 63-74.

○ 藤本 修平. 感染対策サーベイランスにおける新しい取り組み-耐性菌時代の院内感染対策と 2DCM-web-. 化学療法の領域 2014;30: 224(1108)-238(1122).

○ 藤本 修平. 耐性菌と戦う臨床細菌検査の有効活用法 -電子化による感染対策の高精度化-. 日本臨床微生物学会雑誌 2014;25(1): 1-9.

### 2. 学会発表

○平成 24 年度群馬大学文部科学省特別プロジェクト事業「多剤薬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」第 1 回薬剤耐性菌制御のための教育セミナー、「院内感染症制御のための監視システム」(平成 24 年 8 月 10 日)

○第 61 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第 59 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会合同学会 共催セミナー「新時代の耐性菌サーベイランス-耐性菌の拡がりを実時間で見える化する-」(平成 24 年 10 月 12 日)

○IDweek 2012 (2012 年 10 月 18 日), "Σ-alert matrix" A Novel Color Matrix Display of Intra-hospital Bacterial Dissemination, Shuhei Fujimoto, Nobuo Murakami, Yoshichika Arakawa, and Keigo Shibayama

○ 第 41 回薬剤耐性菌研究会、Σ-alert matrix (菌の異常集積警告スコア累積カラーマトリクス)、藤本 修平、村上 啓雄、荒川 宜親、柴山 恵吾(平成 24 年 10 月 26 日)

○ 第 25 回臨床微生物学会総会ワークショップ「JANIS 検査部門参加医療機関の皆さん!! 2DCMweb のすべてをお見せします。-感受性パターン自動分類、分離菌の 2 次元カラーマップ、エピカーブ、多剤耐性菌警告、...-実データで 2DCMweb を体感できる用意をしてお待ちします」

○ 第 26 回日本臨床微生物学会総会ワークショップ「2DCM-web ワークショップです。JANIS 検査部門参加中、参加予定の皆さん、是非のぞいてください。」

○ 第 30 回日本環境感染学会総会ワークショップ「JANIS 検査部門参加中、参加予定の皆さん!! 30 分で 2DCM-web が分かって使えるようになる WS(ワークショップ)です。参加中の皆さんは医療機関コードとパスワードを持って集合！」

## H. 知的財産権の出願・登録状況

○ 特願 2008-161030 「菌の異常集積検出方法および装置、並びに菌異常集積検出の警告スコア累積のグラフ化方法および装置」、平成 25 年 2 月 1 日登録

○ 特願 2013-011915 「アンチバイオグラム 録  
分類方法および装置、2次元キャリアマップ作  
成方法および装置、並びに感染対策指標の  
評価方法および装置」、平成26年7月4日登

## 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

### 抗酸菌の omnilog に関する研究

研究分担者 松本 智成（大阪府結核予防会大阪病院・診断検査部・部長）

研究協力者 飯沼 由嗣（金沢医科大学・臨床感染症学講座・教授）

研究協力者 鈴木 匡弘（愛知県衛生研究所・生物学部細菌研究室・主任研究員）

研究協力者 星野 仁彦（国立感染症研究所・ハンセン氏病研究センター・感染制御部・室長）

#### 研究要旨

この研究では、最終的には結核菌遺伝子上の遺伝子群パターンの有無で菌の性質を類推するタイピング法の開発を目的とした。

はじめに、より簡便に既存の型別法を簡便に行なうことを目標として結核菌の VNTR 法の簡便化を図った。本 VNTR ラダーマーカを用いた同定方法は熟練を要さずより正確な結核菌の型判別が行なえることを明らかにした。この方法は MRSA-POT 法や後述する結核菌 SGIP 法にも理論的に応用可能である。

次に、実際に MRSA-POT 法の型別は MRSA の性質を反映しているかを検討する目的で、既存の遺伝子タイピング法であり機能遺伝子の有無でタイピングする MRSA-POT 法の結果と細菌の機能で分類する omnilog 法での結果を比較した。市中感染型の代表として USA300 を 1 株、POT 法で POT1 値が 106 である菌株を 4 株、院内感染型の代表として POT1 値が 93 である 4 株をそれぞれ omnilog にて解析した。その結果市中感染株は、院内感染株に対して亜硝酸ナトリウム、ならびに安息香酸ナトリウムに対して抵抗性があることが明らかにした。このことにより Small Genomic Island (SGI) の有無で判定する POT 表現法が細菌の表現系と相関している可能性をしめした。

これらを結核菌に応用する目的で結核菌の遺伝子上の機能を有すると推測される結核菌遺伝子群のパターン (small genomic island pattern) による新規解析法 (TB-SGIP 法；つまり結核菌版の POT 法) を開発した。今後 TB-SGIP 法の結果と omnilog 法の比較検討を行う予定である。

#### A. 研究目的

結核菌の型別は、形態、生化学性状、遺伝子の差異によって分類される。現在は、遺伝子による型別が主流であり IS6110 RFLP、スポリゴタイピング、VNTR 解析、SNP 解析、whole genome 解析が用いられるがこれらの解析にて得られた結果からは結核菌の性状を推測する事は理論上不可能である。結核菌には北京株など感染力が強いと言われている株が存在し、株による特徴が推測出来る分子疫学解析法が求められる。既存の遺伝子型別法において機能を反映すると推測される方

法として Small Genomic Island (SGI) の有無で型別する方法が候補にあがり MRSA における POT 法が含まれる。しかしながら POT パターンにより機能が類推できるかは知られていない。我々は、まずは POT 法がよく使用される MRSA 株において市中感染型の代表として USA300 株 1 株、POT 法で POT1 値が 106 である 4 株、院内感染型の代表として POT1 値が 93 である 4 株をそれぞれ omnilog にて解析し POT 法により性質の差を反映できるのかを比較した。

次に、遺伝子型別法は、感染源の追跡調査や感染防止策を検討する上で重要であるが型別判定を正確に行なう必要がある。今回、

より簡便に結核菌の VNTR 法による型判別を行なう目的で、キャピラリー電気泳動装置を使用して特定の VNTR loci において、今まで検出できた全ての反復数における DNA 断片を 1 つにプールした VNTR ラダーマーカを作成し VNTR ラダーマーカ測定の有効性の検討を行った。

最後に、MRSA-POT法に相当する結核菌遺伝子上のSGIパターンの有無による新規結核菌分子疫学解析法 Small genomic island pattern (SGIP)による解析法開発を目的とした。

## B. 研究方法

### DNA ラダーマーカを用いた同定方法の開発

Supply's 15-MIRU において、反復数が同定済みの結核菌ゲノム DNA は反復数を再確認後、各反復数の PCR 産物を混合して Supply's 15-MIRU の領域ごとの VNTR ラダーマーカを作成し、QIAxcel Advanced System 付属の ScreenGel Software に登録した。130 株の結核菌分離株 DNA の各領域における PCR 産物を QIAxcel Advanced System で測定し、VNTR ラダーマーカと直接比較を行ない、各結核菌株の VNTR 反復数を決定した。また、現在使用している i-chip SV1210(日立化成株式会社)より検出された遺伝子型別を QIAxcel Advanced System で得られた遺伝子型別と比較した。

### MRSA-POT と omnilog 法の比較

市中感染型の代表として USA300 株 1 株、POT 法で POT1 値が 106 である 4 株、院内感染型の代表として POT1 値が 93 である 4 株をそれぞれ omnilog にて解析した。

### 新規結核菌遺伝子型別解析 ; TB-SGIP の開発

結核菌遺伝子配列から代表的な結核菌菌株で遺伝子群の保有の有無の差がある small genomic island (SGI)を選び出しその SGI 有無を PCR にて解析し VNTR、スポリゴタイピング、IS6110 RFLP と比較した。

### 倫理面への配慮

検体の扱いには個人情報が出ないように配慮した。

## C. 研究結果

### DNA ラダーマーカを用いた同定方法の開発

QIAxcel Advanced System で同定された各領域の反復数は、i-chip SV1210 で得られたそれらと比較検討した結果、高い相関を示した。また、QIAxcel Advanced System を用いた VNTR の反復数の同定は、従来の分子量マーカを用いて PCR 産物の鎖長の推定を行なう方法と同等またはそれ以上の精度を持つことがわかった。

### MRSA-POT と omnilog 法の比較

市中感染型の代表として USA300 株 1 株、POT 法で POT1 値が 106 である 4 株、院内感染型の代表として POT1 値が 93 である 4 株をそれぞれ omnilog にて解析した結果、市中感染株は、院内感染株に対して亜硝酸ナトリウム、ならびに安息香酸ナトリウムに対して抵抗性があることが明らかとなった。

また、上記を検証するために培地に亜硝酸ナトリウムおよび安息香酸ナトリウムを加え市中感染型と院内感染型の MRSA の各薬剤への抵抗性を検証したが同様の結果が得られた。

### 新規結核菌遺伝子型別解析 ; TB-SGIP の開発

結核菌 43 株を用いた SGIP による解析はスポリゴタイピングとほぼ同程度の解像度が得られ、特に北京株と T3-Osaka 株の検出に有用であった。また、VNTR からえら得た minimum spanning tree と SGIP を比較した結果、ほぼ同等の結果が得られ SGIP による解析は結核菌の進化様式を表す可能性があることが明らかになった。

## D. 考察

我々の研究にて化粧品等の防腐剤として使用される亜硝酸ナトリウム、ならびに安息香酸ナトリウムに抵抗性があることより外用剤に使用される亜硝酸ナトリウム、ならびに安息香酸ナトリウムの使用が市中感染型 MRSA のリスクと関連する可能性が明らかとなった。さらに今回の研究により Small Genomic Island の有無で判定する POT 表現法が細菌の機能と関連している可能性が示唆され、今後 small genomic island 上の遺伝子の性質が判明すれば MRSA-POT 表記と表現系の関係が明らかになる可能性がある。

結核菌は北京株など感染力が強いと言われて

いる株が存在し、株による特徴が推測出来る解析法が求められる。Small genomic islandには機能を有するであろう遺伝子が含まれ、patternの有無を調べることで、それらに含まれる遺伝子の有無がわかる。将来的にはその有無で結核菌の株間の機能の差異が推測出来る可能性がある。今後、今回開発したTB-SGIP法とomnilog法を比較していき仮説を検証する予定である。

また我々は、VNTRラダーマーカを用いた同定方法は熟練を要さずより正確な結核菌の型判別が行なえることを明らかにしたが、この方法は結核菌に対するSGIP法やMRSAに対するPOT法に対して応用可能である。

## E. 結論

今回の我々の研究から遺伝子上のsmall genomic island patternによる解析法の一つであるMRSA-POT法が菌の性質を示すことより、今後small genomic island上の遺伝子の性質が判明すればMRSA-POT表記と表現系の関係が明らかになる可能性がある。また同時に、我々はMRSA-POTの結核菌版である結核菌のsmall genomic island patternによる新しい分子型別法TB-SGIPを開発した。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1). Tomoshige Matsumoto, Masahiro Suzuki, Yoshitsugu Iinuma, Shinji Maeda, Hiromi Ano, Yuriko Koshii, Tomomi Murakawa, Koichi Suzuki and Yoshihiko Hoshino A Molecular Typing Methodology of *Mycobacterium tuberculosis* using Small Genomic Islet Patterns (TB-SGIP): A Novel Genotyping Methodology to Discriminate Clinical Strains between Beijing Family and T3-OSAKA *Journal of Infectious Diseases and Therapeutics*, 2014, 2 pp35-45

2). Tomoshige Matsumoto, Incidence of Influenza after Vaccination in Southeast Osaka, Japan *Journal of Infectious Diseases and Therapeutics*, 2014, 2, 5-11

3). Tomoshige Matsumoto, Masako Ohno, and Junichi Azuma Future of pharmacogenetics-based therapy for tuberculosis *Pharmacogenomics* 15(5) 1-7, 2014

4). Tomoshige Matsumoto, Yukio Hirayama, Yuka Hisamitsu, Megumi Fukumura, Akemi Hirata, Kumi Tanaka, Masashi Kurokawa, Yoshitaka Tamura, Hisakko Yoshida, Koichi Suzuki, Takayuki Nagai, Ichiro Kawase, Yoshihiko Hoshino Simultaneous and Longitudinal Comparison of Interferon Gamma Release Assays Among Health Care Workers in Japan *Journal of Mycobacterial Diseases*. 11/2013; 3:134.

5). Tomoshige Matsumoto, Yuriko Koshii, Kazu Sakane, Tomomi Murakawa, Yukio Hirayama, Hisako Yoshida, Masashi Kurokawa, Yoshitaka Tamura, Takayuki Nagai, Ichiro Kawase A novel approach to automated genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* using a panel of 15 MIRU VNTRs. *Journal of microbiological methods* 04/2013

6). Tomoshige Matsumoto, Hideo Ogata, Emiko Toyota, Katsuhiko Suzuki, Takefumi Saito, Akira Fujita, Toshinori Suetake, Kinuyo Chikamatsu, Kazue Mizuno, Satoshi Mitarai Clinical evaluation of a line probe assay kit for the identification of mycobacterium species and detection of drug-resistant mycobacterium tuberculosis Kekkaku: [Tuberculosis] 03/2013; 88(3):291-296.

### 2. 学会発表

1) 1) 松本智成、平山 幸雄、白山 敬之、岡藤 浩平、板東 千昌、久光 由香、福村 恵、平田 明美、田中 久美、黒川 雅史、田村 嘉孝、永井 崇之、太田 三徳、川瀬 一郎

「当センター同一職員 120 名検体における QFT2G と 3G の比較」第 87 回実験結核研究会 広島国際会議場・広島 2012/5/92)

2) 松本智成「当センター職員同一血液検体における QFT2G と 3G との比較試験、および 5 年前の QFT2G 結果との比較検討」第 2 回結



核診断研究会 広島国際会議場・広島

2012/5/9

3) 黒川 雅史、田村 嘉孝、韓 由紀、松本 智成、永井 崇之、川瀬 一郎「当院における結核菌薬剤耐性率の推移について」 第87回日本結核病学会総会 広島国際会議場・広島 2012/5/10

4) 松本 智成「結核合併関節リウマチ患者12名に対する抗 TNF 製剤投与の安全性と有効性：続報」 第87回日本結核病学会総会 広島国際会議場・広島 2012/5/10

5) 永井 崇之、黒川 雅史、田村 嘉孝、韓 由紀、松本 智成、川瀬 一郎「当院における多剤耐性肺結核 89 例の治療成績」 第87回日本結核病学会総会 広島国際会議場・広島 2012/5/11

6) 松本智成 第25回日本臨床微生物学会総会 ベーシックレクチャー「多剤耐性菌の分子疫学解析」平成26年2月2日 名古屋国際会議場 名古屋

7) 松本智成、永井崇之、田村義孝、黒川雅史、川瀬一郎、藤井隆、相良憲幸 第89回日本結核病学会総会 一般演題 QIAxcel™ Advanced System を使用した結核菌 Supply's 15-MIRU VNTR 解析 2014年5月9日 長良川国際会議場

8) 竹中日登美、山田淳子、山田泰子、松本智成 第89回日本結核病学会総会 一般演題 患者理解度からみた教育方法の課題 2014年5月9日 長良川国際会議場

9). 松本智成、永井崇之、田村義孝、黒川雅史、川瀬一郎、藤井隆、相良憲幸 第89回日本結核病学会総会 一般演題 結核合併関節リウマチ、クローン病患者24名に対する抗 TNF 製剤および抗 IL-6 受容体抗体製剤投与の安全性と有効性(第3報) 2014年5月9日 長良川国際会議場

10). 松本智成 第89回日本結核病学会総会 シンポジウム 抗酸菌の分子疫学解析 2014年5月9日 長良川国際会議場

11). 松本智成 第89回日本結核病学会総会・東ソー株式会社共催アフターヌーンセミナー1 抗酸菌核酸増幅検査の展望 2014年5月9日 長良川国際会議場 5階 国際会議室

12). 松本智成 第113回日本結核病学会近畿地方会・第83回日本呼吸器学会近畿地方会 教育講演「呼吸器内科医が知っておくべき生物学的製剤と抗酸菌症」 2004年6月28日 姫路商工会議所

#### 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
3. その他

## 厚生労働省院内感染対策サーベイランス提出データのデータ有効利用と提出データの精度向上に関する研究

研究分担者 山根 一和（川崎医科大学公衆衛生学）

### 研究要旨

厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）データの有効利用について、検査部門に提出されたデータを用い、①感染症法等で指定されていないが、公衆衛生学的に重要な感染症、②感染症の経年的な発生頻度の変化の評価が可能かどうか検証した。

①については、リステリア症をモデルとして人口100万人当たりの罹患率を推計、②については、肺炎球菌ワクチン導入前後の患者数の変化を調べた。その結果、①4年間のリステリア症平均年間罹患率は1.4/100万人であった。②肺炎球菌感染患者数は、10歳以上では患者数の年次推移に大きな増減は認めなかったが、0～9歳では2010年（442人）と比較し、2012年は37.4%（173人）に減少した。

今回の検討で、JANIS 検査部門のデータを用い、感染症発症患者の推定や、感染症の年次推移を調べることが可能であることが明らかになった。ただし、JANIS 検査部門に提出されたデータは患者の臨床情報が付与されていないため、感染症の判定をする際、無菌的な検査材料から分離された患者を対象とするなどの工夫が必要があると考えられた。

データ精度管理については、全入院患者部門と手術部位感染部門の2部門において、サーベイランスの実施体制と作成されるデータ精度を調査することのできる質問票を作成した。さらに感染管理認定看護師がこの質問票を用いて1部門につき、約1時間で訪問調査を実施できる体制を構築した。

### 研究協力者

鈴木 里和（国立感染症研究所細菌第二部）  
網中眞由美（国立看護大学校）  
岡森 景子（医療法人医誠会医療監査室）  
渋谷 智恵（日本看護協会看護研修学校）  
谷村 久美（公益社団法人沖縄看護協会）  
細田 清美（福井県済生会病院）  
大久保和夫（NPO 法人 HAICS 研究会）

術部位感染部門、集中治療室部門、新生児集中治療室部門の5部門で構成されている。検査部門は主に薬剤耐性菌の分離状況を明らかにすることが目的であることから、解析対象となっている菌種は薬剤耐性菌が中心で、限られているため、収集された多くのデータは利用されていない。そこで、検査部門に提出されたデータを用いて、①感染症法等で指定されていないが、公衆衛生学的に重要でかつ、本邦での罹患率に関する情報がほとんど求められていない感染症、②ワクチン導入が近年なされた感染症の経年的な発生頻度の変化を明らかにし、ワクチンの有効性を評価することが可能かどうか

### A. 研究目的

厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）は検査部門、全入院患者部門、手

かを検証する。

また、データ精度管理に関する研究として、サーベイランス担当者がデータを収集する必要のある部門のうち、全入院患者部門、手術部位感染部門について、参加医療機関に担当者が出向き、サーベイランスの実施状況を調べる能動的な精度管理の実施を行うための質問票の作成を目的とする。

## B. 研究方法

### 1. サーベイランスデータの有効利用に関する研究

① 感染症法等で指定されていないが、公衆衛生学的に重要でかつ、本邦での罹患率に関する情報がほとんど求められていない感染症については、リステリア症をモデルとして、人口 100 万人当たりの罹患率を推計した。まず、リステリア症の定義を血液もしくは髄液から *Listeria monocytogenes* が分離された患者とし、同一の患者 ID から複数回 *L. monocytogenes* が分離された場合は、1 例と集計した。対象期間は 2008 年から 2011 年の 4 年間とした。次に血液培養を提出した JANIS 参加医療機関の病床数の合計を病床規模別に算出し、本邦における病床規模別の総病床数に占める割合を算出した。本邦の病床規模別総病床数は、厚生労働省医療施設調査の結果 (<http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/79-1.html>) を用いた。次に、JANIS 参加医療機関で発生したリステリア症患者数をこの割合で除することにより、病床規模別の推定リステリア症患者数を求めた。最後に、病床規模別の推定リステリア症患者数の総和を本邦の人口で除し、100 万人当たりの罹患率を推計した。

② ワクチンの導入効果の検討については、2011 年から小児への肺炎球菌ワクチン接種公費負担の始まった重症肺炎球菌感染症患者を対象とした。重症肺炎球菌感染症発症患者の定義は血液もしくは髄液から

*Streptococcus pneumoniae* が分離された患者とした。最初の検体から *S. pneumoniae* が分離された後、1 ヶ月以内に再度分離された場合は同一の事例と判定し、それ以降に分離された場合は別の事例と判断した。対象期間は 2008 年 1 月～2012 年 9 月とし、2012 年は 9 カ月分の患者数を 12 カ月に換算し、患者数を求めた。対象医療機関は対象期間中に継続して JANIS 検査部門にデータを提出した医療機関とした。

倫理面への配慮 JANIS 検査部門データは連結可能匿名化されており、研究者が患者個人を特定することはできない。また、データは統計法第 33 条に基づき申請を行い、承認を得た上で研究利用した。

### 2. データ精度管理に関する研究

#### ① 質問票の作成

質問票は参加医療機関の① サーベイランスの実施体制、② データ精度の 2 点が確認できる質問票を作成するために、質問項目を事務局と協議し作成した。さらに、質問者が質問項目の内容を理解できるか確認するために、ICN の研究協力者と質問項目の内容、および文言を検討した。

#### ② 訪問調査

全入院患者部門と手術部位感染部門の両方に参加しており、感染管理認定看護師が院内感染対策に従事している 10 医療機関に協力を依頼し、訪問調査を行った。

現地調査では、質問者が質問項目の意味と評価方法を理解し、質問票を用いて適切な質問を行い、情報収集ができるかを確認した。さらに、収集した情報で参加医療機関のサーベイランスの現状を十分に確認できるかを調べた。

## C. 研究結果

### 1. サーベイランスデータの有効利用に関する研究

① 4年間のリステリア症罹患患者合計は307例、病床規模に応じた補正を行い算出された罹患率は1.1~1.6/100万人で、4年間の平均年間罹患率は1.4/100万人であった。血液培養を提出した集計対象医療機関は426医療機関(2008年)から579医療機関(2011年)に増加した(表1)。

罹患患者数の年齢分布は、65歳以上の高齢者が236人(77.6%)とその多くを占めていた。高齢者では性別による患者数の差は認められず、その他の年代では症例数が少ないため評価できなかつた(図1)。

② 対象期間中に継続してデータを提出した医療機関は101医療機関であった。2008年~2010年は年間患者数が1200人程度であったが、2011年には1046人、2012年には848人(補正後の値)と減少傾向を示した(図2)。年代別では、10歳以上では患者数の年次推移は大きな増減は認めなかつたが、0~9歳では2010年(442人)と比較し、2012年は37.4%(173人)に減少し、特に、ワクチンの接種対象年齢である0歳と1歳で患者数が減少していた。(図3)。

## 2. データ精度管理に関する研究

### 質問票の作成

#### ① 全入院患者部門(添付資料参照)

サーベイランスの実施体制については、大項目として、医療機関情報の登録、データ提出状況、サーベイランスに参加している職種等、還元情報の活用、サーベイランス業務に対する負担について作成した。

医療機関情報の登録について4項目、データ提出状況について4項目、サーベイランスに参加している職種等について8項目、還元情報の活用について5項目、サーベイランス業務に対する負担については1項目、合計22項目を作成した。

データ精度については、提出データ作成手順を確認するために12項目を作成した。

#### ② 手術部位感染部門(添付資料参照)

サーベイランスの実施体制については、大項目として、医療機関情報の登録、データ提出状況、サーベイランスに参加している職種等、還元情報の活用を作成し、医療機関情報の登録について3項目、その他の項目については、全入院患者部門と同様の項目とし、合計21項目を作成した。

### 訪問調査

#### ① 質問者の質問項目内容の理解

感染管理認定看護師(ICN)を想定した質問者が質問項目に対して同一理解をもって質問できるために、質問票は、確認したい内容を記載した、「大項目」、「小項目」を設定した。さらに、具体的な質問上の注意点を記載した「調査ポイント」を質問票内に作成した。

また、質問票作成過程で感染管理認定看護師に質問票を供覧し、質問票の内容と文言について検討し、60か所の修正を行った。さらに、訪問調査を4医療機関実施した時点で、質問票の中間レビューを行った。質問者間で評価基準の統一が難しく、評価が質問者によりまちまちであった項目である、「サーベイランス担当者のサーベイランス業務に対する負担」については中間レビューで各医療機関の担当者が負担に感じているか否かのみを聞きとることとし、質問者が主観的に評価しなくてもよいこととした。中間レビュー後の6医療機関の訪問調査では、質問者の評価が分かれる事例はほとんどなくなった。

#### ② 質問項目の評価方法

評価方法については、原則として○、△、×を記載すれば評価できる形式とし、必要に応じてコメントを記載できる「コメント」欄を加えた。「調査ポイント」を詳細に記載しておくことで、質問者間で評価に差が出ることはほとんどなくなった。さらに、「コメント」欄については、判定が難しいときなどに利用することができ、後日データを集計する際の判断に有効利用できた。