

To obtain the genetic information of clinical isolates from antimicrobial resistance surveillance data, digitized numeric data provided by new genotyping methods, like the POT, contribute to easy and feasible genotyping. Since the POT is very simple and requires equipment only for PCR and agarose gel electrophoresis, this can become a routine performance method in many ordinary clinical microbiology laboratories in various countries and regions, including developing countries around the world. If many clinical microbiologists and researchers would employ the POT for genotyping of clinical isolates, they could report the genotype of each clinical isolate as a digitized numeric number, and this would make it very easy to quickly compare the genotypes of clinical isolates with those of other clinical isolates recovered in different continents or areas. Therefore, the POT would enable us to identify newly emerging genetic lineages in the very early stage of their outbreak. Present weak antimicrobial resistance surveillance and monitoring systems depending mainly on the antimicrobial resistance phenotypes of clinical isolates can be reinforced from the genetic viewpoint by using the POT instead of MLST.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Tetsuya Yagi of Nagoya University, Jun Yatsuyanagi of the Akita Prefectural Research Center for Public Health and Environment, and Keigo Shibayama of the National Institute of Infectious Diseases, Japan, for their kind provision of clinical isolates.

This study was supported by grants from the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan (grants H21-Shinko-Ippan-008, H24-Shinko-Ippan-010, and H25-Shinko-Ippan-003).

REFERENCES

- Sabat AJ, Budimir A, Nashev D, Sá-Leão R, van Dijk JM, Laurent F, Grundmann H, Friedrich AW, ESCMID Study Group of Epidemiological Markers (ESGEM). 2013. Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Euro Surveill.* 18: pii=20380. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20380>.
- Kempf M, Rolain JM. 2012. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Int. J. Antimicrob. Agents* 39:105–114. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.10.004>.
- Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. 2013. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int. J. Antimicrob. Agents* 41:11–19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.09.008>.
- Suzuki M, Tawada Y, Kato M, Hori H, Mamiya N, Hayashi Y, Nakano M, Fukushima R, Katai A, Tanaka T, Hata M, Matsumoto M, Takahashi M, Sakae K. 2006. Development of a rapid strain differentiation method for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Japan by detecting phage-derived open-reading frames. *J. Appl. Microbiol.* 101: 938–947. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02932.x>.
- Suzuki M, Matsumoto M, Takahashi M, Hayakawa Y, Minagawa H. 2009. Identification of the clonal complexes of *Staphylococcus aureus* strains by determination of the conservation patterns of small genomic islets. *J. Appl. Microbiol.* 107:1367–1374. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04321.x>.
- Parkhill J, Dougan G, James KD, Thomson NR, Pickard D, Wain J, Churcher C, Mungall KL, Bentley SD, Holden MT, Sebahia M, Baker S, Basham D, Brooks K, Chillingworth T, Connerton P, Cronin A, Davis P, Davies RM, Dowd L, White N, Farrar J, Feltwell T, Hamlin N, Haque A, Hien TT, Holroyd S, Jagels K, Krogh A, Larsen TS, Leather S, Moule S, O'Gaora P, Parry C, Quail M, Rutherford K, Simmonds M, Skelton J, Stevens K, Whitehead S, Barrell BG. 2001. Complete genome sequence of a multiple drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18. *Nature* 413:848–852. <http://dx.doi.org/10.1038/35101607>.
- La Scola B, Gundi VA, Khamis A, Raoult D. 2006. Sequencing of the *rpoB* gene and flanking spacers for molecular identification of *Acinetobacter* species. *J. Clin. Microbiol.* 44:827–832. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.44.3.827-832.2006>.
- Carver T, Berriman M, Tivey A, Patel C, Böhme U, Barrell BG, Parkhill J, Rajandream MA. 2008. Artemis and ACT: viewing, annotating and comparing sequences stored in a relational database. *Bioinformatics* 24: 2672–2676. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btn529>.
- Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. 2006. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the *bla*_{OXA-51-like} carbapenemase gene intrinsic to this species. *J. Clin. Microbiol.* 44:2974–2976. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01021-06>.
- Turton JF, Gabriel SN, Valderrey C, Kaufmann ME, Pitt TL. 2007. Use of sequence-based typing and multiplex PCR to identify clonal lineages of outbreak strains of *Acinetobacter baumannii*. *Clin. Microbiol. Infect.* 13: 807–815. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01759.x>.
- Matsui M, Suzuki S, Suzuki M, Arakawa Y, Shibayama K. 2013. Rapid discrimination of *Acinetobacter baumannii* international clone II lineage by pyrosequencing SNP analyses of *bla*(OXA-51-like) genes. *J. Microbiol. Methods* 94:121–124. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2013.05.014>.
- Decusser JW, Jansen C, Nordmann P, Emirian A, Bonnin RA, Anais L, Merle JC, Poirel L. 2013. Outbreak of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in France, January to May 2013. *Euro Surveill.* 18:31. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20547>.
- Tena D, Martínez NM, Oteo J, Sáez D, Vindel A, Azañedo ML, Sánchez L, Espinosa A, Cobos J, Sánchez R, Otero I, Bisquert J. 2013. Outbreak of multiresistant OXA-24- and OXA-51-producing *Acinetobacter baumannii* in an internal medicine ward. *Jpn. J. Infect. Dis.* 66:323–326. <http://dx.doi.org/10.7883/jyoken.66.323>.
- Ahmed-Bentley J, Chandran AU, Joffe AM, French D, Peirano G, Pitout JD. 2013. Gram-negative bacteria that produce carbapenemases causing death attributed to recent foreign hospitalization. *Antimicrob. Agents Chemother.* 57:3085–3091. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00297-13>.
- Kempf M, Rolain JM, Azza S, Diene S, Joly-Guillou ML, Dubourg G, Colson P, Papazian L, Richet H, Fournier PE, Ribeiro A, Raoult D. 2013. Investigation of *Acinetobacter baumannii* resistance to carbapenems in Marseille hospitals, south of France: a transition from an epidemic to an endemic situation. *APMIS* 121:64–71. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0463.2012.02935.x>.
- Schuetz AN, Huard RC, Eshoo MW, Massire C, Della-Latta P, Wu F, Jenkins SG. 2012. Identification of a novel *Acinetobacter baumannii* clone in a US hospital outbreak by multilocus polymerase chain reaction/electrospray-ionization mass spectrometry. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 72:14–19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.09.012>.
- Acosta J, Merino M, Viedma E, Poza M, Sanz F, Otero JR, Chaves F, Bou G. 2011. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* harboring OXA-24 carbapenemase, Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 17:1064–1067. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1706.091866>.
- Zhong Q, Xu W, Wu Y, Xu H. 2012. Clonal spread of carbapenem non-susceptible *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit in a teaching hospital in China. *Ann. Lab. Med.* 32:413–419. <http://dx.doi.org/10.3343/alm.2012.32.6.413>.
- Bartual SG, Seifert H, Hippler C, Luzon MA, Wisplinghoff H, Rodriguez-Valera F. 2005. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J. Clin. Microbiol.* 43:4382–4390. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.43.9.4382-4390.2005>.

mixed Filipino-White heritage; both had IgG persistently detected beyond 12 months of age and were monitored clinically for retinochoroiditis. Their charts contained no information regarding maternal exposure or risk factors. During the 15-year period, the rate of diagnosed congenital toxoplasmosis was 3.8 (95% CI 1.5–9.2) per million live births. There were no infant deaths for which congenital toxoplasmosis was recorded as a cause. We were unable to study fetal deaths because the corresponding cause-of-death codes were not readily available.

Historically, the lowest prevalence of *T. gondii* infection has been recorded in the western United States (5). The rate of clinically apparent congenital toxoplasmosis in this study was lower than that found during the late 1980s through early 1990s in the New England Newborn Screening Program initially after birth (2 per 521,555 live births [3.8 per million] versus 5 per 635,000 live births [7.9 per million], respectively) (6). However, the prevalence of *T. gondii* infection has decreased in the United States since the 1990s (1).

Our study is subject to several limitations. Our approach would only detect clinically apparent cases, and the results should be considered a minimal estimate of congenital infection. Some cases may not have been recorded in the electronic system, but this omission is not likely for severe illness, repeated hospital or clinic visits, or outside consultation. The small number of cases makes the rate of diagnosed congenital toxoplasmosis somewhat imprecise; a few missed cases would increase the rate considerably. In addition, we were not able to evaluate fetal deaths; however, stillbirth is reportedly a rare complication of congenital toxoplasmosis (7). Although we found a low rate of diagnosed congenital toxoplasmosis in northern California, population-based studies to evaluate rates of the disease in other geographic areas would be beneficial.

**Jeffrey L. Jones,
Valentina A. Shvachko,
E. Elizabeth Wilkins,
Randy Bergen,
and M. Michele Manos**

Author affiliations: Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA (J.L. Jones, E.E. Wilkins); and Kaiser Permanente Division of Research, Oakland, California, USA (V.A. Shvachko, R. Bergen, M.M. Manos)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2009.131919>

References

1. Jones JL, Kruszon-Moran D, Rivera H, Price C, Wilkins PP. *Toxoplasma gondii* Seroprevalence in the United States 2009–2010 and comparison with the past two decades. *Am J Trop Med Hyg.* 2014;90:1135–39. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.14-0013>
2. Pappas G, Roussos N, Falagas ME. Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol.* 2009;39:1385–94. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.04.003>
3. Remington JS, McLeod R, Wilson CB, Desmonts G. Toxoplasmosis 2011. In: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Nizet V, Maldonado YA, editors. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. 7th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2011. p. 918–1041.
4. Krieger N. Overcoming the absence of socioeconomic data in medical records: validation and application of a census-based methodology. *Am J Public Health.* 1992;82:703–10. <http://dx.doi.org/10.2105/AJPH.82.5.703>
5. Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M, McQuillan G, Navin T, McAuley JB, et al. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. *Am J Epidemiol.* 2001; 154:357–65. <http://dx.doi.org/10.1093/aje/154.4.357>
6. Guerina NG, Hsu HW, Meissner HC, Maguire JH, Lynfield R, Stechenberg B, et al.; The New England Regional Toxoplasma Working Group. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. *N Engl J Med.* 1994;330:1858–63. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199406303302604>
7. Freeman K, Oakley L, Pollak A, Buffolano W, Petersen E, Semprini AE, et al. Association between congenital toxoplasmosis and preterm birth, low birthweight and small for gestational age birth. *BJOG.*

2005;112:31–7. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-0528.2004.00299.x>

Address for correspondence: Jeffrey L. Jones, Centers for Disease Control and Prevention, 1600 Clifton Rd NE, Mailstop A06, Atlanta, GA 30329-4018, USA; email: jjl1@cdc.gov

Invasive Infection Caused by Carbapenem- Resistant *Acinetobacter soli*, Japan

To the Editor: Infections caused by *Acinetobacter* spp., especially *A. baumannii*, have been increasingly documented in recent years. Carbapenems tend to be empirically prescribed as first-choice drugs for severe invasive infections caused by *Acinetobacter* spp. other than *A. baumannii* because these microbes are usually susceptible to carbapenems. However, infections with carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. have been increasingly reported during the past 15 years. In *A. baumannii*, carbapenems are usually inactivated by intrinsic oxacillinase (OXA)-51-like, acquired OXA-23-like, or OXA-58-like carbapenemases. Moreover, production of acquired metallo- β -lactamases (MBLs) of the Verona integron (VIM), imipenemase (IMP), or New Delhi (NDM) types has been detected among carbapenem-resistant *Acinetobacter* species, including *A. baumannii*, *A. junii*, *A. bereziniae*, *A. nosocomialis*, and *A. pittii* (1). We report a case of infection with carbapenem-resistant *A. soli* producing another

MBL type, Tripoli MBL 2 (TMB-2), in a man in Japan.

A man in his 60s who had mesenteric injury, pelvic fracture, and intestinal perforation from a traffic accident was admitted to Okazaki City Hospital in Aichi, Japan, on May 3, 2013. After surgery, cefmetazole was prescribed on May 6 (1 g 2×/d for 7 d). On May 12, symptoms of infection developed in the patient, and 2 sets of blood samples were drawn from different vessels for bacterial culture. The following day, cefmetazole was discontinued, and ciprofloxacin (0.3 g 2×/d) and piperacillin/tazobactam (4.5 g 2×/d) were started. *Acinetobacter* isolates resistant to piperacillin/tazobactam and carbapenems were then recovered from the blood samples, so piperacillin/tazobactam was discontinued on May 14. After that, ceftriaxone (2 g 2×/d) and gentamicin (0.04 g 2×/d) were successively prescribed, in addition to ciprofloxacin; the symptoms of infection improved, and all antimicrobial drugs were discontinued by May 26. Additional blood cultures performed on May 17, 21, and 28 yielded negative results for *Acinetobacter* spp. However, the patient's condition worsened on June 5. Meropenem (0.5 g 4×/d) was then given, but the patient died of multiorgan failure on June 7.

The bacterial isolates from the initial blood cultures were identified as *A. soli* by nucleotide sequencing of the *rpoB* and *gyrB* genes and assigned identification no. HK001. MICs of β-lactams, measured by the agar dilution method in accordance with the guideline M07-A9 of the Clinical and Laboratory Standards Institute (<http://clsi.org>), were as follows: sulbactam/ampicillin, >128 mg/L; piperacillin, >128 mg/L; tazobactam/piperacillin, >128 mg/L; ceftaxime, >64 mg/L; ceftazidime, >64 mg/L; aztreonam, 64 mg/L; cefmetazole, >128 mg/L; imipenem, 8 mg/L; meropenem, 32 mg/L; and doripenem, 32 mg/L. However, MICs

of gentamicin, amikacin, levofloxacin, ciprofloxacin, colistin, and tigecycline were below the breakpoints of susceptibility as listed in Clinical and Laboratory Standards Institute document M100-S23. Carbapenem resistance was not transferred from *A. soli* HK001 to *Escherichia coli* strain CSH-2 (*metB* F⁻ NA^r Rif^r) by conjugation. A double-disk synergy test was initially performed by using sodium mercaptoacetic acid (SMA) (2) and ceftazidime and meropenem disks (Eiken Chemical Co., Ltd, Tokyo, Japan), and results suggested MBL production. The modified Hodge test was then performed, and ertapenem and meropenem disks gave clear positive results (data not shown). PCR was performed to detect *bla*_{OXA-23}-like, *bla*_{OXA-24/40}-like, *bla*_{OXA-51}-like, *bla*_{OXA-58}-like, *bla*_{IMP-1}, *bla*_{IMP-2}, *bla*_{VIM-1}, *bla*_{VIM-2}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{SMB-1}, and *bla*_{TMB-1} genes. Nucleotide sequence analyses showed that the *A. soli* isolate harbored *bla*_{TMB-2} and *bla*_{OXA-58}. The modified SMA-disk method (3) was reevaluated to determine whether it could successfully detect TMB-2 production

in *A. soli* HK001. Apparent positive results were obtained when disks containing imipenem, meropenem, or ertapenem were used, particularly when the edge-to-edge distance between 2 disks containing SMA and a carbapenem, respectively, was kept at 5 mm (Figure, top row). However, when the distance between the ertapenem and SMA disks was ≥10 mm, MBL production was more difficult to detect (Figure, lower 2 rows). This finding may be the result of co-production of OXA-58 by the isolate.

More than 30 *Acinetobacter* species had been registered by January 2012 (4); *A. soli* was initially isolated from the soil of a mountain forest in South Korea in 2007 (5) and has been recovered from blood cultures of 5 neonates in Brazil (6). Carbapenem-resistant *A. soli* co-harboring *bla*_{IMP-1} and *bla*_{OXA-58}-like genes was identified in April 2011 in Japan and is frequently recovered from bacteremia patients (7). TMB-1 was reported in 2012 in an *Achromobacter xylooxidans* isolate from a hospital in Tripoli, Libya (8); TMB-2 was later reported in Japan

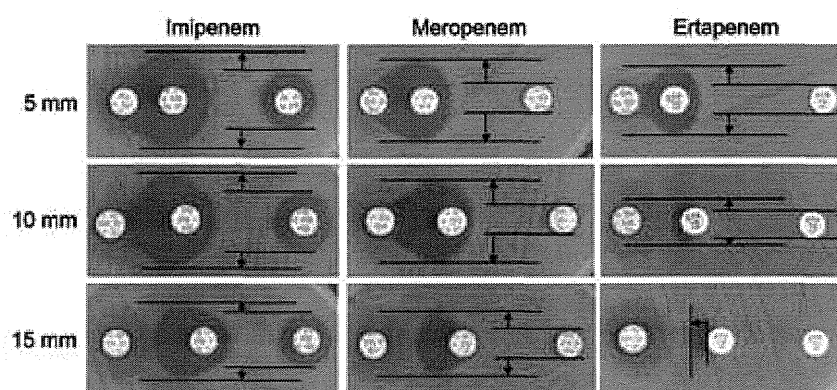


Figure. Results of double-disk synergy testing of the *Acinetobacter soli* isolate HK001 identified in a man in Japan. Testing was performed by using disks containing sodium mercaptoacetic acid (SMA) and the carbapenems imipenem, meropenem, and ertapenem. Apparent expansion of growth inhibition zone around a carbapenem disk placed near a SMA disk compared with that around a disk of carbapenem alone is seen on Mueller-Hinton agar if the isolate produces metallo-β-lactamases (2,3). When the edge-to-edge distance between 2 disks containing a carbapenem and SMA, respectively, was kept at 5 mm, expansion of the growth inhibition zone became clearer than for those kept at a distance of 10 mm and 15 mm, regardless of carbapenems used. Vertical expansion of growth inhibition zones by the effect of SMA is indicated by arrows; ertapenem gave the clearest result when the disk distance was kept at 5 mm (top right panel), even though *A. soli* HK001 co-produces oxacillinase 58-like carbapenemase, which is hardly inhibited by SMA.

(9). The TMB-2-producing *A. soli* strain that we isolated came from a blood culture, indicating that *A. soli* is a potential cause of bloodstream infections or bacteremia. *A. soli* has also been detected in lice and keds of domestic animals (10), indicating that *A. soli* may inhabit natural environments and that injuries and bites by arthropods might present a risk for invasive infections. Isolates of *Acinetobacter* species, particularly those recovered from blood culture, should be identified to species type to enable further evaluation of the clinical significance of carbapenem-resistant *A. soli* strains.

This study was supported by the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan (H25-Shinko-Ippan-003 and H24-Shinko-Ippan-010).

**Hiromitsu Kitanaka,
Masa-aki Sasano,
Satoru Yokoyama,
Masahiro Suzuki, Wanchun Jin,
Masami Inayoshi,
Mitsuhiro Hori,
Jun-ichi Wachino, Kouji Kimura,
Keiko Yamada, and
Yoshichika Arakawa**

Author affiliations: Nagoya University Graduate School of Medicine, Aichi, Japan (H. Kitanaka, S. Yokoyama, W. Jin, J. Wachino, K. Kimura, K. Yamada, Y. Arakawa); Okazaki City Hospital, Aichi (M. Sasano, M. Inayoshi, M. Hori); and Aichi Prefectural Institute of Public Health, Aichi (M. Suzuki)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2009.140117>

References

1. Yamamoto M, Nagao M, Matsumura Y, Hotta G, Matsushima A, Ito Y, et al. Regional dissemination of *Acinetobacter* species harboring metallo- β -lactamase genes in Japan. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:729–36. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12013>
2. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K, Kurokawa H, Yagi T, Fujiwara H, et al. Convenient test for screening metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J Clin Microbiol*. 2000;38:40–3.
3. Hattori T, Kawamura K, Arakawa Y. Comparison of test methods for detecting metallo- β -lactamase-producing Gram-negative bacteria. *Jpn J Infect Dis*. 2013;66:512–8.
4. Malhotra J, Anand S, Jindal S, Rajagopal R, Lal R. *Acinetobacter indicus* sp. nov., isolated from a hexachlorocyclohexane dump site. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2012;62:2883–90. <http://dx.doi.org/10.1099/ijs.0.037721-0>
5. Kim D, Baik KS, Kim MS, Park SC, Kim SS, Rhee MS, et al. *Acinetobacter soli* sp. nov., isolated from forest soil. *J Microbiol*. 2008;46:396–401. <http://dx.doi.org/10.1007/s12275-008-0118-y>
6. Pellegrino FL, Vieira VV, Baio PV, dos Santos RM, dos Santos AL, Santos NG, et al. *Acinetobacter soli* as a cause of bloodstream infection in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol*. 2011;49:2283–5. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00326-11>
7. Endo S, Yano H, Kanamori H, Inomata S, Aoyagi T, Hatta M, et al. High frequency of *Acinetobacter soli* among *Acinetobacter* isolates causing bacteremia at a Japanese tertiary hospital. *J Clin Microbiol*. 2014;52:911–5. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.03009-13>
8. El Salabi A, Borra PS, Toleman MA, Samuelsen Ø, Walsh TR. Genetic and biochemical characterization of a novel metallo- β -lactamase, TMB-1, from an *Achromobacter xylosoxidans* strain isolated in Tripoli, Libya. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:2241–5. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.05640-11>
9. Suzuki S, Matsui M, Suzuki M, Sugita A, Kosuge Y, Kodama N, et al. Detection of Tripoli metallo- β -lactamase 2 (TMB-2), a variant of bla_{TMB-1}, in clinical isolates of *Acinetobacter* spp. in Japan. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:1441–2. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkt031>
10. Kumsa B, Socolovschi C, Parola P, Rolain JM, Raoult D. Molecular detection of *Acinetobacter* species in lice and keds of domestic animals in Oromia Regional State, Ethiopia. *PLoS ONE*. 2012;7:e52377. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0052377>

Address for correspondence: Yoshichika Arakawa, Department of Bacteriology, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya, Aichi 466-8550, Japan; email: arakawa@med.nagoya-u.ac.jp

The opinions expressed by the authors contributing to this journal do not necessarily reflect the opinions of the Centers for Disease Control and Prevention or the institution with which the authors are affiliated.

Spread of Vaccinia Virus to Cattle Herds, Argentina, 2011

To the Editor: Since 1999, several zoonotic outbreaks of vaccinia virus (VACV) infection have been reported in cattle and humans in rural areas of Brazil. The infections have caused exanthematous lesions on cows and persons who milk them, and thus are detrimental to the milk industry and public health services (1,2). In Brazil during the last decade, VACV outbreaks have been detected from the north to the extreme south of the country (1–4). Because Brazil shares extensive boundaries with other South American countries, humans and cattle on dairy and beef-producing farms in those countries may be at risk of exposure to VACV. To determine if VACV has spread from Brazil to Argentina, we investigated the presence of VACV in serum samples from cattle in Argentina.

During 2011, we obtained serum samples from 100 animals (50 dairy and 50 beef cattle) on farms in Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, and Santa Fe Provinces in Argentina (online Technical Appendix, panel A, <http://wwwnc.cdc.gov/EID/article/20/9/14-0154-Techapp1.pdf>). No VACV cases had been reported in humans or cattle in these provinces. However, Corrientes Province borders the Brazilian state of Rio Grande do Sul, where VACVs (Pelotas 1 and Pelotas 2 viruses) were isolated during an outbreak affecting horses in 2008 (2).

To determine the presence of neutralizing antibodies in the serum samples, we used an orthopoxvirus 70% plaque-reduction neutralization test as described (4). On the basis of previous studies that detected viral DNA in serum samples (4–6), we used real-time PCR to amplify the highly conserved orthopoxvirus vaccinia growth factor (*vgf*) gene DNA (P.A. Alves, unpub. methods).

This content is in the Public Domain.

耐性病原体 up-to-date ~耐性メカニズムから治療戦略まで~

III 耐性菌サーベイランス

2. 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 —

New era of surveillance — 2DCM-web and Infection control of the MDRO era —

藤本 修平*

菌の院内拡散は抗菌薬による選択圧とともに、耐性菌による院内感染拡大の主たる加速要因である。院内感染症の起因菌は常在菌や環境菌であり、検出されること自体は異常とは言えず、さらに、菌は目に見えないため、異常な検出であったとしてもその広がりを把握することが困難である。筆者らは菌の院内拡散を可視化する方法の研究を行ってきた。平成 21 年(2009 年)より菌の院内拡散状況を可視化する 2DCM(Two-dimensional color-coded Carrier Mapping system) を厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS) 検査部門参加施設が自由に利用できるようにする研究を行った。平成 23 年(2011 年)度より 2DCM-web として利用できるようになり、すでに 400 を超える施設が利用している。これまで全国サーベイランスの還元情報は、印刷物、電子媒体で表やグラフの形で行われており、2DCM-web のようなアプリケーションを用いてデータを高次利用する情報還元は海外でも行われていない。さらに現在、菌の不自然な分離を自動検出して菌の院内拡散を感度よく発見する方法や、それを利用して院内感染対策の問題点の指摘、対策の評価を行う方法などについても将来的に全国サーベイランスで利用可能になるように検討を進めている。本稿では耐性菌時代の院内感染対策と菌の院内拡散について述べた後、菌の院内拡散を発見、解析する方法、2DCM、2DCM-web の実際について説明する。

Key Words : 感染対策 / 耐性菌 / 菌の院内拡散 / 2DCM-web

I 今日の院内感染対策の問題点と対策

1. 高度先進医療と易感染患者の増加

医療の現場では医療の高度先進化にともな

い侵入門戸での生体防御を妨げるさまざまな医療行為が行われており、易感染患者を生んでいる。易感染患者と言うと抗がん剤などによるいわゆる免疫が低下した患者を思い浮か

* 東海大学医学部基礎医学系生体防御学 教授 Shuhei Fujimoto

べることが多いが、多くの日和見感染は皮膚粘膜での防御を障害された患者から発生する。皮膚の物理的な防御を妨げる血管内カテーテルによるカテーテル関連血流感染、気道の防御機構である繊毛運動や粘液分泌細胞の働きを気管内挿管によってバイパスすることによる人工呼吸器関連肺炎等、デバイス関連感染症が問題となるのはそのような背景による。

2. 易感染患者と日和見感染症

病原体は排泄門戸から感染経路を介して侵入門戸に達した後、付着、侵入、細胞内侵入、毒素生産などの病原性によって感染症を発症させる。我々の体はこれらの病原性に対して侵入門戸での防御を含むさまざまな生体防御能により守られている。健康な個体のすべての生体防御能を破って感染症を起こす病原体を「病原菌」あるいは「強毒菌」と呼んでいる。インフルエンザウイルスや腸管出血性大腸菌は健康な若者に感染症を起こす「病原菌」、「強毒菌」の例である。

一方、侵入門戸での防御など生体防御が妨げられると「病原菌」、「強毒菌」以外の菌（非病原菌、弱毒菌）によっても感染症が発生する。正常な皮膚や粘膜を破って体の中に入ることができる病原体は少ないが、たとえば、一旦血管内に入ってしまう感染症を起こす菌は多い。このような、非病原菌、弱毒菌が起す感染症を日和見感染症と呼び、その原因となる菌を日和見感染菌と呼んでいる。

3. 高度先進医療と多剤耐性菌による

日和見感染症

高度先進医療の実施によって易感染患者が生まれ、易感染患者は非病原菌による日和見感染症を発症する。我々の身の回りにいる非病原菌とは、常在細菌、環境菌であり、これらの菌が日和見感染症の原因となる。常在菌や環境菌は、患者、医療従事者、病院環境の一部として長時間、病院内に存在する。病院内には易感染患者が居るため治療・予防目的

で抗菌薬が多用される。常在菌や環境菌は病院内に長時間存在するため、くり返し抗菌薬に曝露され、感性菌は淘汰され、耐性菌、くり返しの曝露により多剤耐性菌が選択されるようになる。常在菌や環境菌には免疫による排除が起こらないため、これらの菌では治療・予防目的で抗菌薬が使用されるたびに、ごくわずかな耐性菌でも確実に選択される。さらに、高度先進医療では一時的であっても患者の動きが制限されることが多く、医療従事者が、治療のため、ケアのために患者に触れる必要があり、院内感染の機会を多くしている。高度先進医療が耐性菌による難治院内感染症を生むのは必然と言える。

4. 耐性菌時代の感染対策

高度先進医療は易感染患者を作るため安全な実施のために有効な抗菌薬が必要であるが、今日、抗菌薬の開発が低調でこの基盤が揺らいでいる。

対策として耐性菌による院内感染を抑制する方法について考えてきた。耐性菌による院内感染対策には科学的データに基づいて、①院内感染を抑止すること、②耐性菌の拡散を抑止することが必要で、耐性菌の拡散の抑止のためには抗菌薬の適正使用による選択圧の除去が重要である。科学的データを作るためのサーベイランスシステムの構築から着手¹⁾、院内感染対策の評価、抗菌薬適正使用の評価に結びつくようなデータの収集、集計、還元法を考えてきた²⁾。

5. 耐性菌時代の院内感染対策の問題点

日和見感染菌による院内感染対策には、①日和見感染菌は常在菌や環境菌であって分離されても異常とは言えないこと、②菌は目に見えないため広がり把握できないという問題があり、院内感染対策の担当者は病原菌（強毒菌）による感染症や検出されることがまれな耐性菌による感染以外では院内感染であることを自信をもって判定できないという問題がある。

III 耐性菌サーベイランス

II 耐性菌時代の感染対策と菌の院内拡散

院内感染症には、感染の原因となる病原体が直接個体の外から付着・侵入して発症する外因性院内感染症と、感染源がその個体の常在細菌叢である内因性院内感染症がある。外因性院内感染症では何らかの感染経路によって環境あるいは別の個体から病原体が患者に付着することが必要で、菌の院内拡散が最初のステップとなる。耐性菌の院内拡散においても菌の院内拡散が最初の重要なステップとなるが、少量の感染が発生しても選択圧がない状態では耐性菌は脱落することが多いため、実際の拡散にはさらに抗菌薬による選択圧も重要な役割を果たす。内因性院内感染症においても耐性菌の院内拡散によって患者が入院後に他の患者から多剤耐性菌など難治化の原因となる菌をもらい、抗菌薬による選択

圧によって常在細菌叢がその耐性菌で置き換わった場合、難治化の原因は菌の院内拡散と抗菌薬による選択圧にあると言える。さらに、ひとりの患者から他の患者に菌が拡散する状況は衛生的でない状態を意味し、アウトブレイクの危険因子となる(図1)。耐性菌時代の院内感染対策では菌の院内拡散の抑制と抗菌薬の適正使用が重要である。

III 菌の院内拡散の検出と見える化

本稿 I-5 で述べたように、菌の院内拡散を抑制するためには菌の院内拡散を異常として検出し、さらに見える化することが必要である。筆者らは、常在菌、環境菌を含めたあらゆる菌について、菌の不自然な分離(異常集積)を自動的に検出することで菌の院内拡散を早期に発見する方法(「菌の異常集積の自動検出」[PMA: Probability-based Microbial Alert])、PMA の出す警告をスコア化し

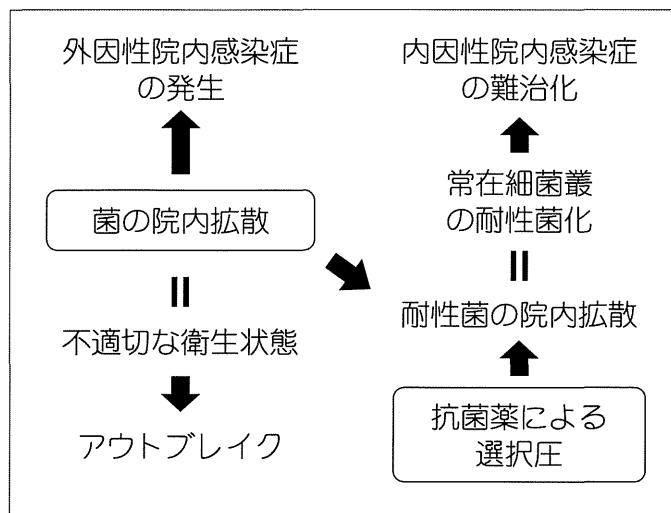


図1 耐性菌時代の院内感染症と菌の院内拡散, 耐性菌による選択圧
菌の院内拡散は外因性院内感染症の最初のステップであり、耐性菌の院内拡散においても重要なステップである。さらに、内因性院内感染症難治化の原因、アウトブレイクの危険因子でもある。

(筆者作成)

PMA (Probability-based Microbial Alert ; 菌の異常集積の自動検出)

て院内感染対策の問題点を予測し、また、院内感染対策の評価を支援する指標となる「菌の異常集積警告スコア累積」(Σ-alert)、「菌の異常集積スコア累積マトリクス」(Σ-alert matrix) および個々の菌の院内拡散を見える化する2DCM (Two-dimensional color-coded Carrier Mapping system) を開発した。これらを概説する。

1. 「菌の異常集積の自動検出」(PMA)

個々の菌種について、何もないときにその菌が分離される人の頻度であるベースラインレート (baseline rate)、一定期間に検出の対象となった人数 (検体提出患者数)、そのうちその菌が分離された人数 (陽性患者数) の3つがわかると、そのような菌の分離がまったく偶然だけに支配されて (sporadic に) 発生する確率は二項分布によって正確に求めることができる (図2)。したがって、菌の分離がまったく偶然だけに支配されていることを帰無仮説とすると、求めた確率が一定以下であれば、「偶然だけに支配されて起こった確率は低いから、人為的関与があったと考えた方が自然である」という解釈ができる (帰無仮説が否定される)。人為的関与とは、ある個体から別の個体に菌を広げる、何らかの感染源があってそこから菌が広がるなどを意味する。同時に、「自然に分離されるよりも、異常に多い人数から菌が分離された」こと、つまり時間的、あるいは空間的な集積を意味する。これは菌の院内拡散と同等と考えてよい。

PMA は数理統計学の統計的仮説検定の基本を応用したものであるが、異常の検出を実用的に行うためには、毎日、検出される全菌種について、病院全体、病棟別などの場所 (ユニット) ごとに、さらに、短期間に起きる問題、長期に起こる問題の両方を確実にとらえるために複数の集計期間で計算を行う必要が

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

図2 二項分布による確率の計算

n : 検査をした人数, m : その菌が検出された人の数, p : その菌が分離される人の率 (ベースラインレート)

二項分布は分布という名前がついているが、結果としての確率分布を示す用語で、確率の計算は母集団の分布に影響されない。菌の分離が偶然だけに左右されて発生していることを帰無仮説として計算された確率が小さいとき、この帰無仮説は否定され、人為的な力の影響があったと判断する。これは偶然だけに左右されている sporadic な分離でなく、異常な集積 (菌の院内拡散) があったことを意味する。

(筆者作成)

ある。すなわち、菌種数×ユニット数×集計期間 (通常7日、14日、28日または30日) の計算を毎日行うことが必要となり、人手で行うことは困難であるが、データの収集、集計、確率の計算を自動的に行うシステムを構築すれば漏れのない異常の検出を行える³⁾。

PMA は、最初に国立大学共通ソフトウェア感染症管理システム (プロジェクト終了)⁴⁾、次に SHIPL (Standardized Hospital Infection Primary Lookout system)⁵⁾⁶⁾ に実装され、利用されている。

2. 「菌の異常集積警告スコア累積」(Σ-alert)、「菌の異常集積スコア累積マトリクス」(Σ-alert matrix)

PMA は求めた確率をもとに、偶然以外に左右されて発生した可能性の高さによって level 1 ~ 3 までの警告を出す。レベルの基準値 (しきい値) は任意に設定可能であるが、現在稼働しているシステムの既存値は、level 1 : $p < 0.01$, level 2 : $p < 0.005$, level 3 : $p < 0.001$ である。

2DCM (Two-dimensional color-coded Carrier Mapping system)

SHIPL (Standardized Hospital Infection Primary Lookout system)

III 耐性菌サーベイランス

PMA の院内感染予防に関する有用性を検討する中で、level 1～3 の警告をそのまま、1～3 の値として警告が出るたびに加算し、月ごとに集計、さらに棒グラフ化する Σ -alert の仕組み (Σ -alert) を検討した。 Σ -alert (図3) を用いることで数年分の菌の異常集積(院内拡散の状況)を理解することができる³⁾。

Σ -alert では統計的に有意な変化だけを積算するため、菌の分離があっても統計的に有意な異常でなければスコアは 0 になる。

Σ -alert は 1 枚のグラフに数年間分の 1 菌種の菌の異常集積(院内拡散の状況)を示すことができる。縦軸の累積警告スコアの値をカラーコード化(色分けで表す方法)すると 1 枚のグラフを 1 本の帯として表すことができる。これを縦軸方向に重ねると数十菌種の数

年分の菌の異常集積を 1 枚の図にすることができる(図4)。これを警告スコア累積カラーマトリクス Σ -alert matrix と呼んでいる。

Σ -alert matrix は個々の施設の感染対策上の問題点を見出す目的で開発を行ったが、全分離菌種についての数年間の経過をひと目で見られることから、院内感染対策上のわずかな変化もよく反映することが明らかになった(図4, 5)。

Σ -alert は SHIPL に実装され利用されているが、 Σ -alert matrix の実装は今後の課題である。PMA, Σ -alert, Σ -alert matrix の算出、作図に必要な情報は厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) 検査部門で収集されている情報であり、これらの仕組みを JANIS 提出データを利用した処理に用いることも原理的には可能であるが、PMA の算

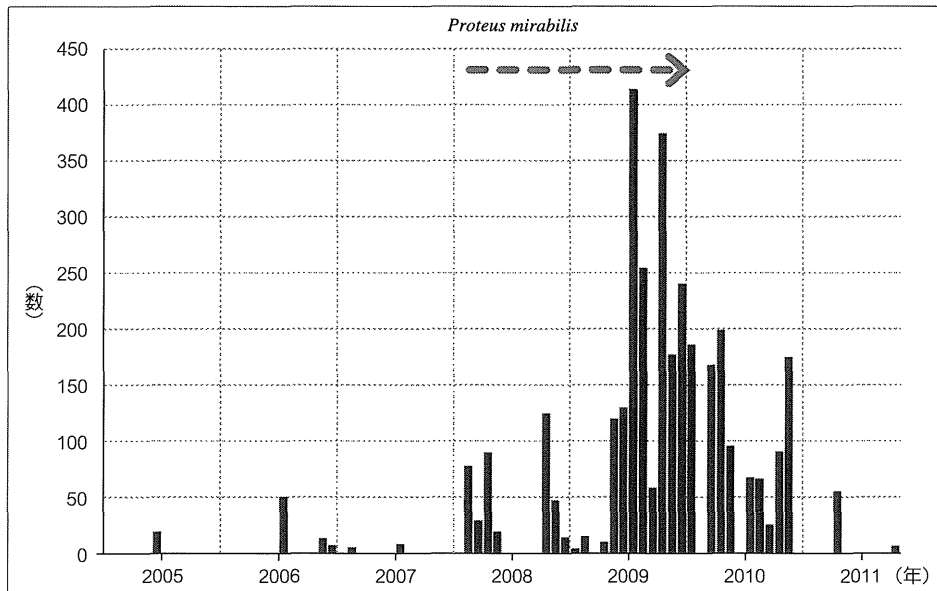


図3 Σ -alert

「菌の異常集積の自動検出」(PMA: Probability-based Microbial Alert) の例。本稿図7の2DCMの例と同じ施設の *Proteus mirabilis* のもの。点線矢印の期間が、本稿図7で示した患者Aから *Proteus mirabilis* がくり返し分離されるようになった時期を示している。

(筆者作成)

— 2. 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 —

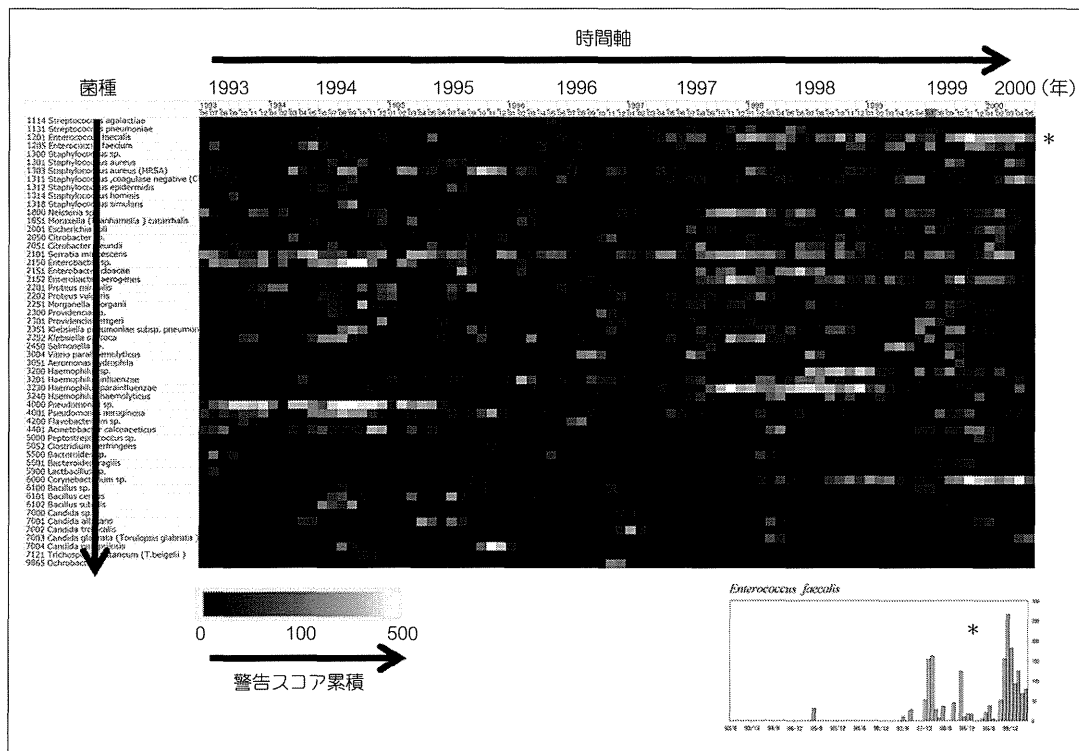


図4 警告スコア累積カラーマトリクス Σ-alert matrix

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ースケールであり、Σ-alertの棒グラフの高さをカースケール化したものである。右下のΣ-alertの図に対応する行に*印を付した。この図ではカ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～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）ことがわかるが、この施設では病棟の増築工事を1994年の12月～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わかっていて、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わかる。

PMA：菌の異常集積の自動検出

(筆者作成)

出に必要な処理のシステム負担が大きいため現実的には難しい。PMAの算出を簡便に行う方法について検討している。

3. 2DCM (Two-dimensional color-coded Carrier Mapping system)

PMA, Σ-alert, Σ-alert matrixは菌の院内拡散を検出する方法、あるいは、その結果を用いて施設内における菌の院内拡散の状況を把握するための方法である。これに対して2DCMは個々の菌が院内で分布している状況を、分離時期、場所(病棟あるいは診療科な

ど)、患者、患者の移動、菌の感受性パターンによる分類と結びつけて2次元平面に表示する方法であり、PMAによって見出された異常が本当に施設内での拡散かどうかを予測する方法である⁷⁾。

同菌種の複数の菌が分離された場合、同じ株であるかどうかを判断するgold standardはパルスフィールド電気泳動などの分子疫学的方法である。感受性パターンによる株の判定は分子疫学的方法に較べると分解能は低い⁷⁾が、アウトブレイクなど特定株が広がった場

III 耐性菌サーベイランス

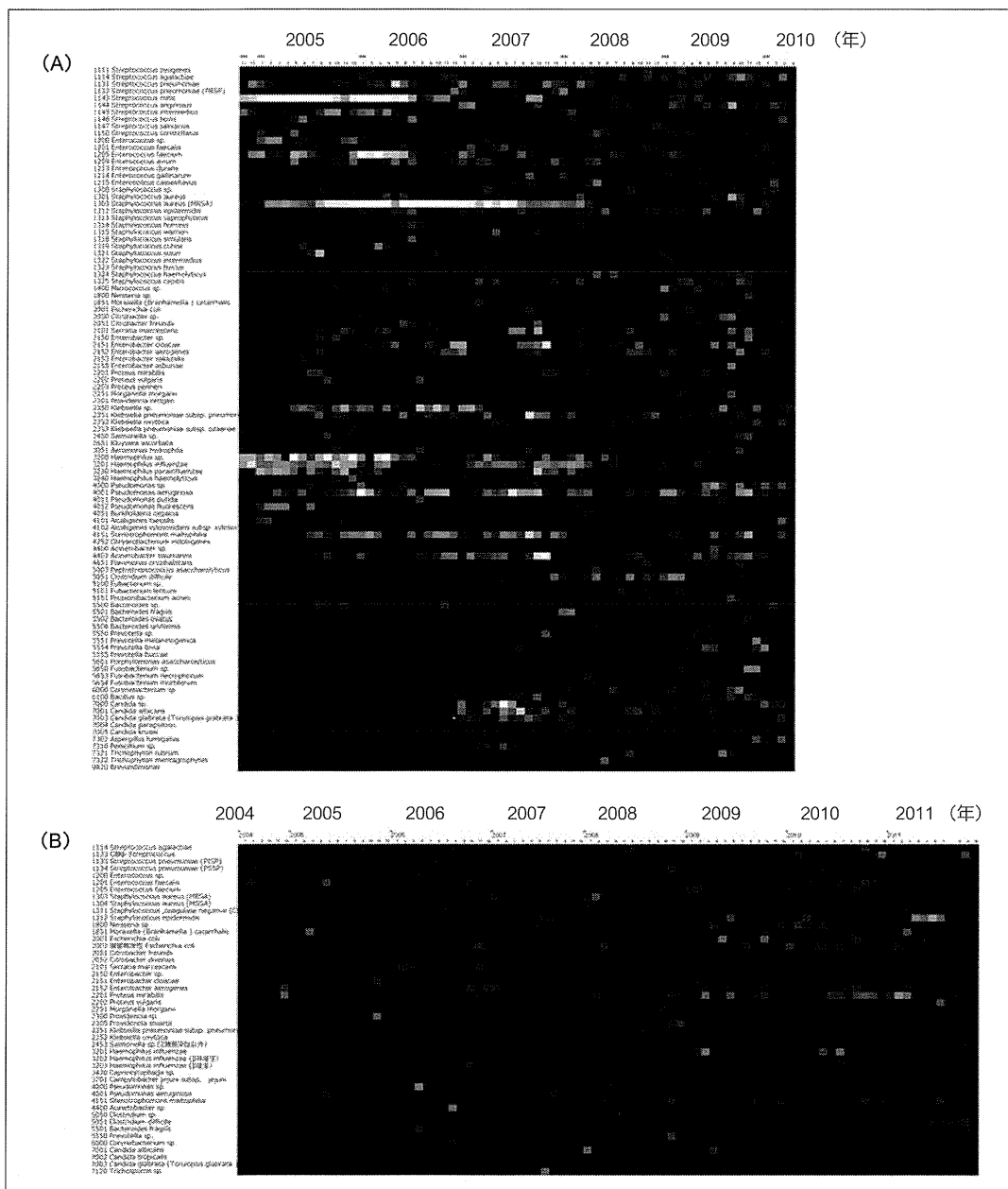


図5 Σ-alert matrix の例

(A) MRSA などの院内感染をくり返していた大学病院。2008 年後半から菌の院内拡散が減少。2008 年頃から院内感染対策の強化が行われていた。2008 年までの左 5/3 程度には明るく見える菌の院内拡散が多く記録されているが、その後の時期では明るい部分が減り、菌の院内拡散が減っていることがわかる。

(B) 感染対策の行き届いていた中規模病院。2008 年の後半から菌の院内拡散が増加。同時期に研修医の採用をはじめていた。もともと菌の院内拡散が少なく、暗い図であるが、2008 年の後半からわずかであるが明るい部分が増えて、菌の院内拡散が増えたことがわかる。本図ではカラースケールの代わりにグレースケールを用いている。

MRSA：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌

(筆者作成)

菌株	PIPC	GM	CPFX	
1	R	I	I	①
2	S	S	I	②③
3	S	I	R	②④
4	S	R	R	④
5	S	S	S	③

図6 感受性パターンの分類でひとつの株が複数のグループに含まれる例

S：感性，I：中間，R：耐性

CLSIのSIRでは，SとI，IとRのブレイクポイントのMICの違いは2倍であり測定誤差範囲である。したがって，IはSかもしれないし，Rであるかもしれないため判断に用いることができない。MIC値の2倍の差，検査を行っていない薬剤も同様である。SとS，RとR，MIC値が等しければ一致，SとR，MIC値で4倍の違いは不一致であることだけが分類に利用できる。

菌株1はPIPCにRで他の菌株はSであるため，他のどの株とも別の株であると言ってよい。菌株2はGMにSであるためGMにRの菌株4とは別の株と言ってよい。菌株2と菌株3とはSとRの不一致がないため同じ株であるかもしれない。菌株2と菌株5とはSとRの不一致がないため同じ株であるかもしれない。菌株3と菌株4はSとRの不一致がないため同じ株であるかもしれない。菌株4はGMにRであるため菌株5とは別の株と言ってよい。したがって，菌株2は②グループの菌株3と同じ菌株かもしれない。同時に③グループの菌株5と同じ株であるかもしれない。菌株3は同時に，④グループの菌株4と同じグループであるかもしれない。

CLSI：Clinical and Laboratory Standards Institute，MIC：最小発育阻止濃度

PIPC：ピペラシリン，GM：ゲンタマイシン，CPFX：シプロフロキサシン

(筆者作成)

合には分子疫学的方法とよく一致し，スクリーニングによる方法であるとされている^{8)~11)}。

微量液体希釈法などの2倍希釈系のMIC(最小発育阻止濃度)測定では，2倍の差，いわゆる1管の差は誤差範囲であり，1管の差を示した場合，結果は同じとも同じでないとも言えない。臨床の検査では，すべての株がすべて同じ抗菌薬に対する感受性を測定しているとは言えないため，検査をしていない薬

剤についても，検査をしていれば同じだったかもしれないし，同じでなかったかもしれない不定値として扱う必要がある。

不定値があるために分類が複雑になる(図6)。複雑な臨床データを論理的にもれなく手作業で分類することはほとんど不可能であるため自動的に行う方法を検討した。

検査が正しければ2つの株の感受性検査を比較して，すべての薬剤について，MICで4倍以上の違い，SIRでSとRの違いがひとつ

III 耐性菌サーベイランス

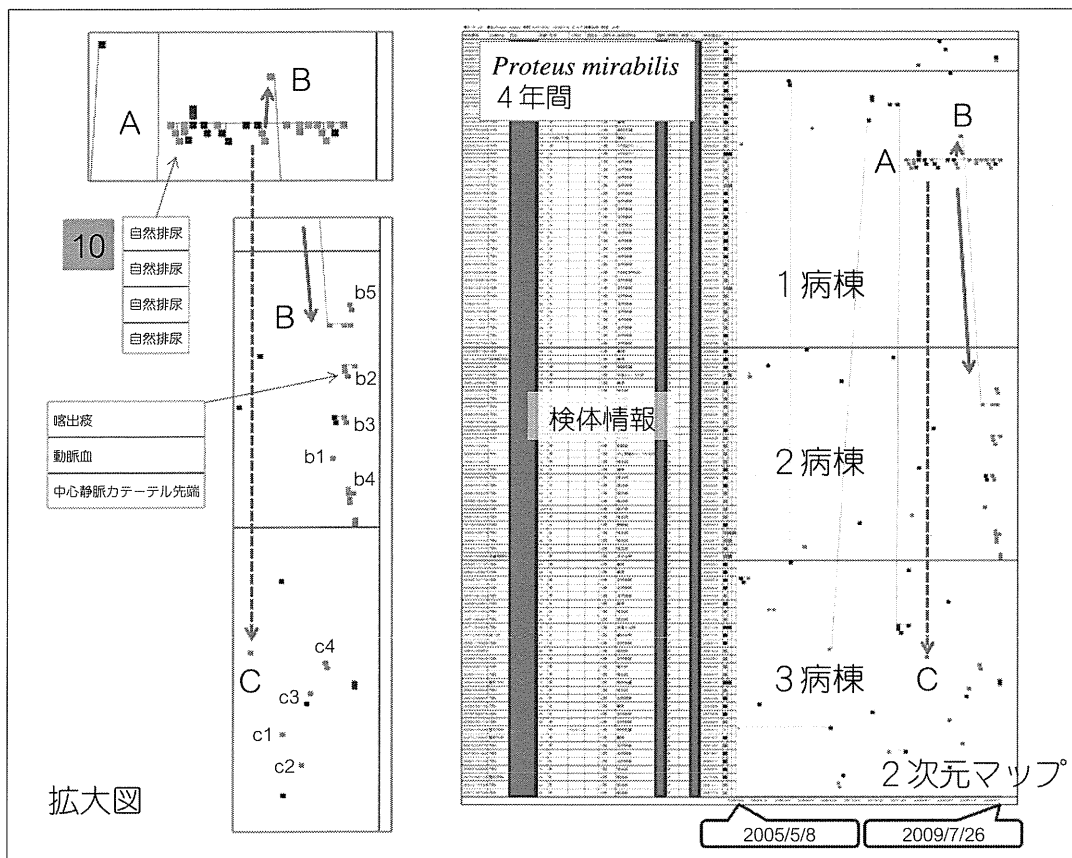


図7 2DCMの例

右側に2DCMの例を、左側に右側の図の部分拡大したものを示した。約4年間の *Proteus mirabilis* の分離を表示している。個々の四角はひとつの菌の分離に対応し、同じ患者からの分離菌は線で結ばれ、同じ病棟に居るあいだは水平に配置される。四角は感受性パターンのグループの番号が印され、対応するカラーコードで塗られる。

この施設では最初の2年程度は *Proteus mirabilis* の分離があるものの散発的で、特定の感受性パターンの分離も同じ患者から分離されたもの以外にはない。その後、1病棟の患者Aから10番のグループに分類される株がくり返し分離されるようになると、同じ10番に属する株が他の患者からも分離されるようになる。1病棟では患者Bが発端であり、その後、b1～b5の5名から同様の株が分離されている。患者Bは1病棟から2病棟に移動していることから、この患者が2病棟に持ち込んだ可能性がある。発端の患者Aでは検体はいずれも自然排尿であったが、b2では、動脈血、中心静脈カテーテル先端から分離されており、すでに感染症を発症していることがわかる。検体の情報はマップの左側の検体情報の表示領域に表示され、線で結ばれたその病棟での最初の分離株の高さを左側に追うと検体情報の最初の行にたどり着くように配置している。3病棟への侵入経路は不明であるが、患者Cが発端でその後、c1～c4に広がっている。本稿図3のΣ-alertは、この施設のものである。あわせて理解するとよい(原図はカラー)。

2DCM : Two-dimensional color-coded Carrier Mapping system

(筆者作成)

でもあれば別の表現型であると判断してよく、異なる株と判断してよい。一方、これらの違いがひとつもなければ異なる株であると

いう根拠はなく、同じ株である可能性が残る。しかし、MICで一致、SIR判定でS同士、R同士の一致がまったくない場合は同じ株で

— 2. 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 —

あるというには根拠が不十分とも言える。そこで、2DCMでは、MICの一致、SまたはR同士の一致の数が一定値（しきい値：0以上で比較対象となる薬剤数〔有効抗菌薬数〕までで設定。既存値は有効薬剤数の1/2）以上の場合にこれらの2つの株が同じ株であるという判断を行うようにしている。上記の不一致がひとつもなければ同じ株である可能性は否定できないため、しきい値には0をとることもできる。

3つ以上の株が同じ株かどうかを判断する

ためには、その3つ以上の株について総当たりでお互いに同じ株かどうか確認をして、すべてで同じ株という判断であれば、それら3つ以上の株も表現型上、同じ株であるという判断を行う。しかし、この組み合わせは100株でも10の30乗にもなり、スーパーコンピュータを用いても確認しきれない。お互いに同じ株と判断できる組み合わせだけを効率的に、論理的な落ちなく探す方法を見出し、これを応用した。さらに結果をわかりやすい図にする方法を工夫した。

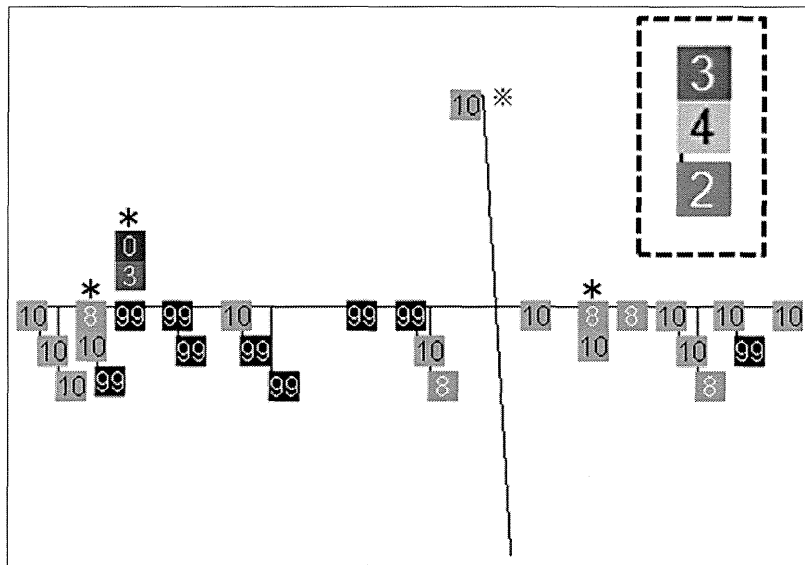


図8 2DCMの描画の詳細

ひとつの分離株がひとつのグループに分類されるときは、ひとつの四角として描画される。ひとつの株が複数のグループに分類されるときは複数の四角のかたまり（*の株が相当）として描画される。同じ患者からの検体に対応する四角は水平に配置され水平線で結ばれる。分離の日が近く、四角が重なる場合は、あとから検出された株を一段下に描画し、基線となる水平線から垂線が下ろされる。同じ日に提出された複数株は垂直に配置され、垂線で結ばれるが、かたまりとして描かれず、間に垂線が見える。右上点線囲み内の例では、グループ3と4に属する一株と、グループ2に属する別の一株が同じ日に分離されたことを示している。別の病棟・病室あるいは診療科などに患者が移動し、移動先で菌の分離があると病棟などの区切りをまたいで斜めの線で結ぶ（*の株が相当）。99のグループ番号は、感受性検査を行っていない株、感受性検査の結果があっても特定のグループに分類されなかった株に与えている（原図はカラー）。

2DCM : Two-dimensional color-coded Carrier Mapping system

(筆者作成)

III 耐性菌サーベイランス

個々の分離菌は2次元マップ上に、ひとつないし複数の色つきの四角のかたまりとして描かれる(図7)。マップの左側に、マップにある株に対応する菌株の背景情報の要約が表示される。基本的に同じ患者から検出された株は、その患者が同じ病棟にいるときには水平に配置して描画されるが、分離された日が近い場合は重なりを避けるための工夫をしている(図8)。患者が移動した場合もその動きを追跡しやすいようにした(図9)。

図7の例では同じ株と考えられる同じ感受性パターンに属する *Proteus mirabilis* がくり返し分離される患者を発端に、菌が病院全体に広がる様子、院内感染症を発症していること、菌が侵入したルートなどが1枚の

2DCM から容易に理解できる。図3は同じ施設の *Proteus mirabilis* の Σ -alert であり、患者Aから *Proteus mirabilis* が分離されるようになった直後から菌の異常集積(菌の院内拡散)が発生し、2病棟、3病棟に広がるにつれて、より大きな問題が発生していることがわかる。

本例では2DCMの解析によって初めてこのような理解が可能であった。2DCMでは、長期間にわたる解析、多数の株の解析が可能であり、数百株の解析も簡単に行える。これまでには見ることのできなかつた菌の院内拡散の様子を知ることができる。

パルスフィールド電気泳動, POT (phage open reading flame typing) 法など分子疫学

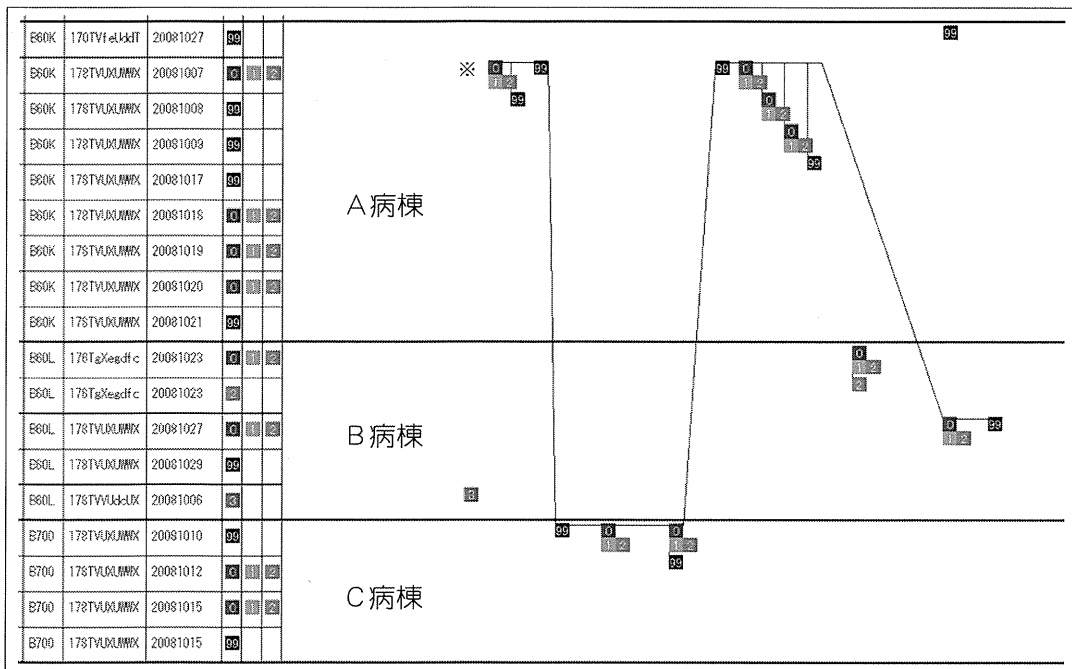


図9 患者の移動の例

※印のついた患者はA病棟からC病棟に移動し、その後、A病棟に戻り、さらにB病棟に移動したことがわかる。同じ病棟に戻ったときは、その病棟での最初分離株が配置された場所と同じ高さに戻して配置することで、同じ患者であることがわかるようにしている。

(筆者作成)

POT (phage open reading flame typing)

234 (1118)

オンラインメドジャーナル

— 2. 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 —

的方法と 2DCM の結果の比較を検討したところ、PMA で検出されるような、時間的、空間的(病棟、診療科など)な異常集積があった場合、多剤耐性菌である場合、図 7 の例のように、くり返し同じ株が分離される患者(感染源)が存在する場合などで院内拡散の可能性が高く、このような例では 2DCM と分子疫学的方法の結果がよく一致し、信頼性が高いことがわかった。逆に散発的分離では感受性の高い株が多いなどの理由で分解能が低いことがわかった。

IV 2DCM-web を使おう

JANIS 検査部門参加施設が 2DCM を自由に利用できる仕組みを開発した。JANIS 検査部門参加施設は、ログイン後、還元情報ダウンロードページの 2DCM-web を起動するためのボタンから 2DCM-web を起動できる(図 10)。

メイン画面で最初に表示したい範囲のデータの取得を行う。ここでは少し広めに範囲をとってデータをダウンロードする。その後はデータのダウンロードをせずに範囲内の任意

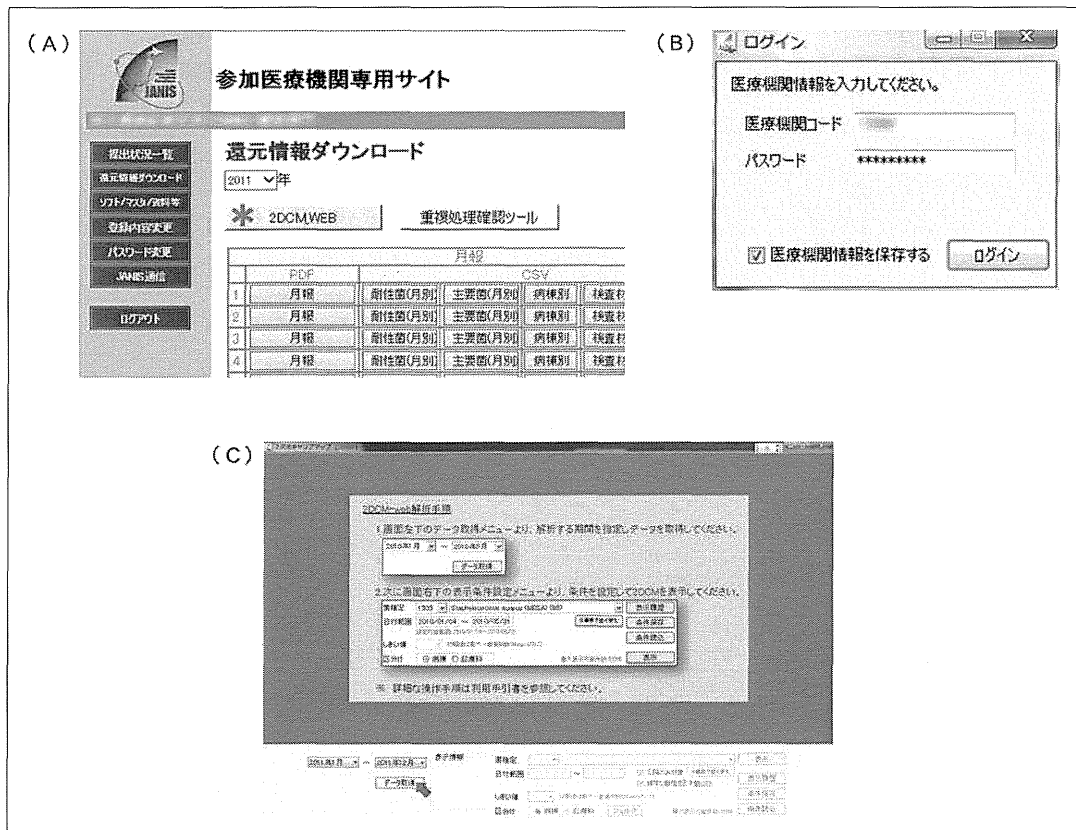


図 10 2DCM-web のログイン

(A) 検査部門へのログイン後、還元情報ダウンロードのページにある 2DCM-web 起動ボタン(*印)を押すと、データ取得のために(B)のログインダイアログが表示される。これに答えると、簡単な操作方法を案内した(C)の画面が表示される。検査部門へのログイン後、「ソフト/マスタ/資料など」のページからマニュアル、簡易マニュアル(A4版1枚)をダウンロードできる。

2DCM : Two-dimensional color-coded Carrier Mapping system

(筆者作成)

III 耐性菌サーベイランス

期間の任意の菌の 2DCM を何度でも表示することができる。

2DCM-web は利用時に JANIS のサーバー上の 2DCM-web アプリケーションを利用者の使っているパソコン上で実行する。さまざまなツールをもった 2DCM-web の完全セット (図 11) が利用者のパソコンに一時的にインストールされる。利用者は常にもっとも新しい 2DCM-web のソフトウェアを安全に利用できる。2DCM 作図動作がすべて利用者のパソコン上で実行されるため、作図の速さ、一度に扱えるデータ量などは利用者のパソコンの能力にある程度左右される。利用するパ

ソコンの推奨仕様などを参考に利用してほしい。

現在までに 400 以上の施設が利用している。現在、JANIS には菌の異常集積 (院内拡散) を自動検出する仕組みがないため、利用のきっかけは、検査室でのチェック、JANIS 還元情報のチェックによって特定菌の分離増加などをきっかけに 2DCM-web を利用する。「怪しい」と思ったら 2DCM-web を開き、前後のデータを解析、epi-curve 機能も利用して拡散の疑いが、単なる偶然か、持ち込みによるものか、真の拡散であるらしいのか確認をして、必要に応じて分子疫学的方法での

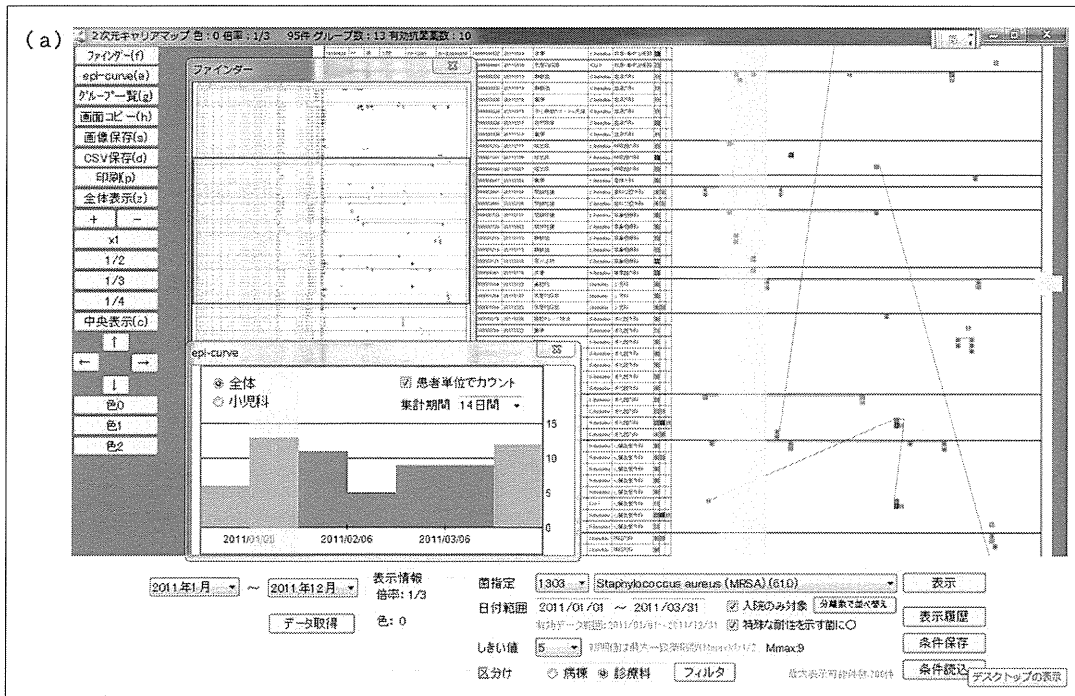


図 11A 2DCM-web の例

(a) 2DCM-web には多くのツールが用意されており解析の補助となる。PMA による Σ -alert の実装は今後の課題であるが、患者数あるいは株数による epi-curve が実装されている。Epi-curve の棒グラフをクリックすると対応する期間が 2次元マップに帯として表示され、その増加が単一株によるものかどうかを予測するのに役立つ。Epi-curve の集計期間は、7日、14日、28日を選択することができる。集計対象も、病院全体、病棟または診療科別の表示ができるため、どこで強い集積があったのかを確認することができる。

2DCM : Two-dimensional color-coded Carrier Mapping system, PMA : 菌の異常集積の自動検出

(筆者作成)

— 2. 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—

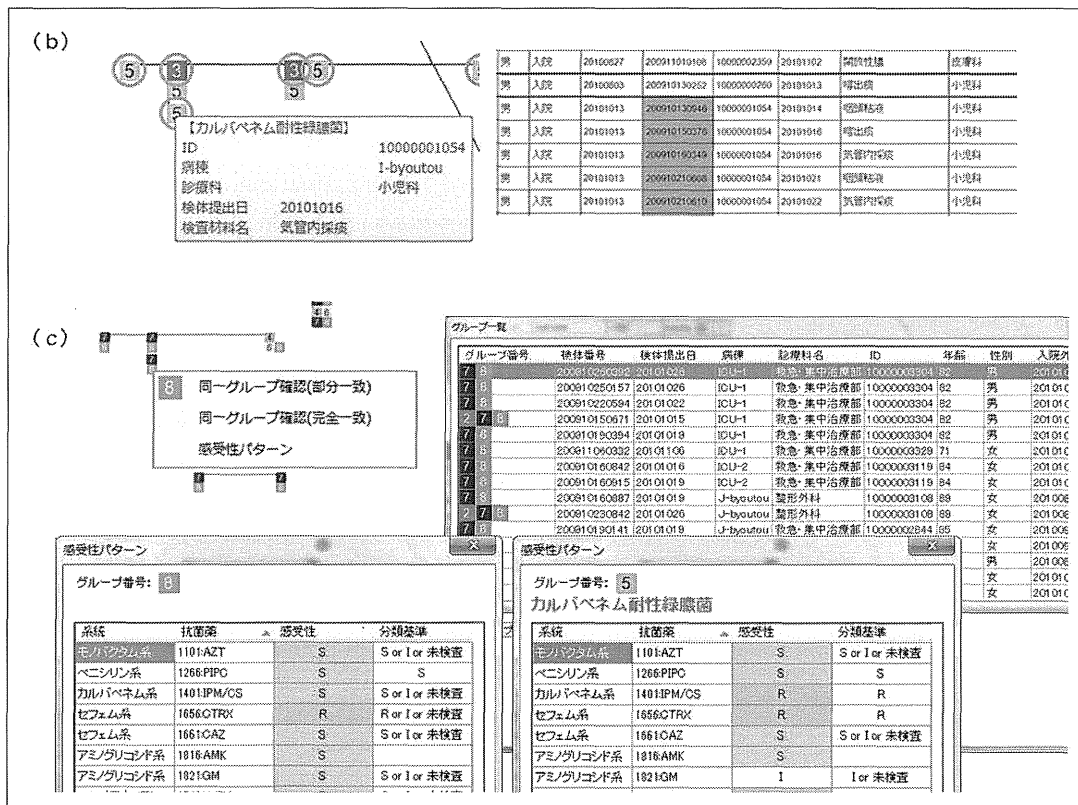


図 11B 2DCM-web の例

(b) それぞれの四角を左クリックするとその株の背景情報(左側の検体情報覧にも表示されている)が表示される。また、問題となる耐性菌には丸印がつけられ、検体情報の覧の検体番号欄にも警告色が表示される。

(c) 右クリックでは同じ感受性パターンのグループに属する株の一覧や感受性パターンの表示が行われる。

2DCM : Two-dimensional color-coded Carrier Mapping system

(筆者作成)

確認を行うとよいだろう。

2DCM-webではMRSA(メチシリン耐性黄色ブドウ球菌)のSIR判定をMSSA(メチシリン感性黄色ブドウ球菌)のブレイクポイントを用いて再判定することでMRSA分類の分別能をあげている。利用経験のない施設は是非一度利用してみてほしい。2DCM-webでしかわからないことがある。

V 結語

耐性菌時代の感染対策において抗菌薬の適

正使用とともに菌の院内拡散のコントロールが重要であることを見出し、菌の院内拡散の発見、解析を行う方法の検討を行ってきた。菌の院内拡散の解析を行うツールである2DCM-webはJANIS検査部門の還元情報の一部として稼働している。サーベイランス事業の目的をどこに置くか議論はあるが、最終的な目標が国民の健康を守ることであれば、収集されたデータを有効かつ効率的に利用して院内感染対策に役立てることは重要であると考えられる。

MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌)

MSSA (メチシリン感性黄色ブドウ球菌)

III 耐性菌サーベイランス

病院内での感染対策を行うためのシステムが次第に普及してきたが、導入経費が高く、すべての医療機関がすぐに導入できる環境にはない。2DCM-webは通常のWindows®パソコンとインターネット接続環境があれば無料で利用できる仕組みであり、費用対効果の大きな効率的なシステムであると考えられる。

現在は2DCM-web利用のきっかけとなる院内拡散の検出は、検査室での検出、JANIS還元情報からの検出に頼っているが、PMAの計算を軽減する試みを行っており、JANISレベルでの実装の技術的可能性を検討しはじめている。PMAの実装が可能になれば、 Σ -alert、 Σ -alert matrixの簡易版の実装も視野に入る。

JANIS検査部門データの標準化を基盤として、耐性菌が検出された段階で検査システムに警告/案内メッセージを発生させるための耐性菌の条件や、発生させるメッセージの内容を定義した標準ファイル(メッセージ)の定義を進めている。このメッセージが標準化されれば耐性菌の水際での検出が確実にになり、サーベイランスの精度向上、検査データの精度向上に結びつく。これも感染対策サーベイランスの新しい取り組みと言えよう。

今後も、より多くの施設が参加し、より有用な情報を、より手軽に引き出せるようなサーベイランスが実現するように、基礎となる研究を続ける必要がある。同時に、実現した仕組みがより多くの人に利用され、国民の安全、健康に役立つことを願う。

文 献

- 1) 藤本修平：耐性菌サーベイランスの目指すところ. *Infection control* **13** (10) : 1024-1030, 2004.
- 2) 藤本修平, 富田治芳, 池康嘉：病院感染対策にかかわるサーベイランス「サーベイランスの電子化」. *Medical Technology* **35** (5) : 449-455, 2007.
- 3) 藤本修平：院内感染を防ぐ細菌院内拡散自動検出法. *Medical Technology* **36** : 682-683, 2008.
- 4) 藤本修平, 池康嘉, 酒巻哲夫ほか：国立大学医学部附属病院共通ソフト「感染症管理システム」の開発 (Universal Infection Control Computer System for National University Hospitals). *医療情報学* **22** : 546-547, 2002.
- 5) 八束真一：中小規模病院で実施可能なサーベイランス. *Medical Technology* **35** (5) : 456-462, 2007.
- 6) 八束真一, 高橋正樹, 阿久澤まさ子, 藤本修平：感染管理に役立つ基礎知識 今すぐできる検査室の貢献. 外注検査を感染対策に効率的に取り入れる方法. *Medical Technology* (0389-1887) **37** : 362-366, 2009.
- 7) 藤本修平：「antibiogramの自動分類と二次元キャリアマップ(2DCM)」による院内感染対策. *IASR* **32** : 9-10, 2011.
- 8) Montesinos I, Salido E, Delgado T, et al : Epidemiologic genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis at a university hospital and comparison with antibiotyping and protein A and coagulase gene polymorphisms. *J Clin Microbiol* **40** : 2119-2125, 2002.
- 9) Deplano A, Denis O, Nonhoff C, et al : Outbreak of hospital-adapted clonal complex-17 vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* strain in a haematology unit : role of rapid typing for early control. *J Antimicrob Chemother* **60** : 849-854, 2007.
- 10) Broschat SL, Call DR, Davis MA, et al : Improved identification of epidemiologically related strains of *Salmonella enterica* by use of a fusion algorithm based on pulsed-field gel electrophoresis and multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis. *J Clin Microbiol* **48** : 4072-4082, 2010.
- 11) Galdbart JO, Morvan A, Solh N : Phenotypic and molecular typing of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains susceptible to gentamicin isolated in France from 1995 to 1997. *J Clin Microbiol* **38** : 185-190, 2000.