

201520026A

厚生労働科学研究費補助金

地域医療基盤開発推進研究事業

在宅医療患者等における多剤耐性菌の
分離率及び分子疫学解析

(H27-医療-一般-012)

平成27年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 荒川 宜親

平成28(2016)年 3月

平成 27 年度 厚生労働科学研究費補助金

(地域医療基盤開発推進研究事業)

「在宅医療患者等における多剤耐性菌の分離率及び `分子疫学解析」

(H26-医療-一般-012)

班員名簿

研究代表者	荒川宜親	名古屋大学大学院医学系研究科 分子病原細菌学・耐性菌制御学分野	教授
研究分担者	飯沼由嗣	金沢医科大学医学部基礎医学系生体防御学	教授
研究協力者 (順不同)	川村久美子	名古屋大学大学院医学研究科	准教授
	藤本修平	東海大学医学部基礎医学系生体防御学	教授
	村上啓雄	岐阜大学医学部附属病院副病院長	教授
	太田浩敏	岐阜大学医学部附属病院検査部	副技師長
	木村幸司	名古屋大学大学院医学研究科	准教授
	和知野純一	同 上	講師
	高橋英郎	社会福祉法人 健生会 特別養護老人ホーム 花の苑	施設長
	市橋 亮	医療法人 かがやき 総合在宅医療クリニックグループ	理事長 代表
	高木寛治	医療法人社団 高德会 高木医院	院長
	鳥澤英紀	医療法人社団 光成会 鳥澤医院	院長
	三輪佳行	医療法人 育寿会 MIWA 内科胃腸科 CLINIC	理事長 院長
	宮本憲治	北医療生活協同組合 生協わかばの里	施設長
	浦田士郎	愛知県厚生農業協同組合連合会 安城更生病院	院長
木野本武久	同 上 介護老人保健施設あおみ	施設長	
梅田貴之	デイサービス/ショートステイ/ 在宅介護支援事業所 プエトルアズール 住宅型有料老人ホーム エステートドール小牧	理事長	

目 次

I. 総括研究報告書

荒川宜親

在宅医療患者等における多剤耐性菌の分離率及び分子疫学解析 …………… 1

II. 分担研究報告書

荒川宜親

在宅医療患者等からの多剤耐性菌の分離及び分子疫学解析 …………… 4

飯沼由嗣

北陸地区での在宅医療及び療養型施設における多剤耐性菌の
分離率及び分子疫学解析 …………… 7

川村久美子

在宅医療患者等における多剤耐性菌の分離率及び分子疫学解析 …………… 10

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 (平成 27 年度は無し)

IV. 研究成果の刊行物・別刷 (平成 27 年度は無し)

V. 参考資料

倫理委員会審査資料

協力施設説明会資料

総括研究報告書

在宅医療患者等における多剤耐性菌の分離率及び分子疫学解析

研究代表者 荒川宜親（名古屋大学大学院医学系研究科 分子病原細菌学／耐性菌制御学分野）

研究要旨 研究代表者である荒川宜親は、本調査研究を開始するに先立ち、研究分担者である金沢医科大学の飯沼由嗣教授、名古屋大学医学部保健学科の川村久美子准教授らの支援を受けつつ、研究の実施に必要な研究計画書等の倫理審査書類を作成し、それを名古屋大学大学院医学系研究科の「疫学研究専門調査委員会」に提出して、ヒアリングと文書の修正を数度行なった後、11月に研究実施に関する承認を得た。これを受け、研究分担者の飯沼教授、川村准教授、さらに、研究協力者である、岐阜大学医学部の村上啓雄教授、東海大学医学部の藤本修平教授らの支援を得つつ、承認された研究計画書に基づいて、それぞれの研究協力施設に赴き、研究内容やその実施に関する説明会を開催した。説明会開催後、各協力施設の研究協力者らにより、各施設において乱数表などを用いて選定した各施設の入所者やその代諾者に対し、研究の目的や方法、不利益などの研究倫理的な内容について説明し、研究に協力することに同意が得られた在宅患者や施設の入所者より、順次、研究分担者や研究協力者らにより、咽頭拭い液、糞便、尿などの検体収集を開始した。平成27年度中に検体の収集と解析が実施できた愛知県内での調査から、在宅医療患者がMRSAやESBL産生菌を一定頻度で保菌していることが確認され、平成28年度における本格調査に向け研究計画を立てることができた。

研究分担者（敬称略）

金沢医科大学医学部基礎医学系生体防御学・
教授 飯沼由嗣
名古屋大学大学院医学研究科
准教授 川村久美子

医療法人社団 光成会 鳥澤医院
院長 鳥澤英紀
医療法人 育寿会 理事長 兼
MIWA 内科胃腸科 CLINIC 院長 三輪佳行
北医療生活協同組合 生協わかばの里
施設長 宮本憲治
愛知県厚生農業協同組合連合会
安城更生病院 院長 浦田士郎
同上 介護老人保健施設あおみ
施設長 木野本武久
デイサービス/ショートステイ/
在宅介護支援事業所
ペトルアズール
理事長 梅田貴之
住宅型有料老人ホーム
エステートドール小牧
理事長 梅田貴之

研究協力者（敬称略）

東海大学医学部基礎医学系生体防御学・
教授 藤本修平
岐阜大学医学部附属病院副院長
生体支援センター長 教授 村上啓雄
岐阜大学医学部附属病院検査部
副技師長 太田浩敏
名古屋大学大学院医学系研究科
分子病原細菌学／耐性菌制御学分野
講師 木村幸司
講師 和知野純一

研究協力施設および責任者氏名（敬称略）

社会福祉法人健生会 特別養護老人ホーム
花の苑 施設長 高橋 英郎
医療法人 かがやき 理事長 総合在宅
医療クリニックグループ代表 市橋 亮
医療法人社団 高德会 高木医院
院長 高木寛治

A. 研究目的

国内外の医療現場では、1980年代より、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）やバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）が徐々に問題となりはじめ、2000年頃よりカルバペネムなどに耐性を獲得した多剤耐性緑膿菌（MDRP）や多剤耐性アシネトバクター（MDRA）、さらに2010年以降カルバペネムを含む広

範な抗菌薬に耐性を獲得した腸内細菌科の細菌(CRE)が、急性期医療機関のみならず、市中環境などからも分離されるようになり国際的に大きな関心事となっている。

比較的規模の大きい急性期医療機関における各種薬剤耐性菌の分離頻度などは、医療関係者や研究者の個別的な調査研究とともに厚生労働省の院内感染対策サーベイランス事業(JANIS)などにより、その実態が概ね把握されている。しかし、在宅医療を受けている患者や療養型施設等の入所者における、薬剤耐性菌の保菌実態については不明な点が多い。そこで、今回、国内の在宅医療患者や療養施設・介護施設等でケアを受けておられる入所者等における多剤耐性菌の実態を明らかとすることを目的として研究を実施した。

B. 研究方法

1. 研究実施にあたっての準備

今回の研究では、在宅患者や、療養施設、介護施設などの入所者における、MRSA や多剤耐性緑膿菌、ESBL 産生菌、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)など7種類の薬剤耐性菌の分離状況とともに、それぞれの耐性株やそれらが保有する耐性遺伝子の遺伝型などを明らかにすることを目的としている。そのため、在宅患者や入所者より、咽頭拭い液、便、尿などの提供を受ける必要があり、それを可能とするため、名古屋大学大学院医学系研究科の「疫学研究専門調査委員会」に研究計画書等を提出し、審査と許可を得て研究を開始した。

2. 研究対象

調査対象者：訪問診療等により在宅医療を受けている者および療養型施設、介護施設の入所者で、本人または代諾者により調査への協力意思が確認できた者

対象とする多剤耐性菌：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)、ペニシリン耐性肺炎球菌(PR(I)SP)、多剤耐性緑膿菌(MDRP)、多剤耐性アシネトバクター(MDRA)、基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)産生菌及びカルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)

調査対象の検体：咽頭拭い液、糞便、尿等

3. 耐性菌検出方法

インフォームド・コンセントの手続きを経て在宅患者や入所者より提供された検体を、直接または数時間増菌培養した後、種々の抗菌薬を含んだ選択培地に塗布し、一夜37°Cで培養後、それぞれの薬剤耐性菌の候補株を分離した。薬剤耐性菌の分離方法は、金沢医科大学等のグループと原則的に同等の方法を採用した。

具体的には、咽頭拭い液については、MRSA、MDRP、MDRA 選択培地および血液寒天平板にスワブを用いて菌を接種し、一夜37°Cで培養後、コロニーの発育の有無を観察した。さらに、血液寒天平板で α 溶血を示し、コロニーの形態から肺炎球菌が疑われた場合には、オプトヒンテストを実施した。その後、肺炎球菌と確定したものについてMIC測定を行い、PR(I)SPであるかを決定した。尿、糞便および褥創滲出液については、MRSA、VRE、ESBL/KPC 産生菌、MDRP、MDRA の各選択培地に検体を接種し、一夜37°Cで培養後、コロニーの発育の有無を観察した。なお、糞便検体については、VRE と ESBL/KPC 産生菌を対象とした増菌培養を行った。

4. 耐性菌確認方法

各々の選択培地で得られたコロニーについては、通常の方法に加え、質量分析装置などを活用して菌種を同定するとともに、PCR および PCR 産物の塩基配列のシーケンス解析により耐性遺伝子を検出した。

(倫理面への配慮)

非侵襲的手法での検体の採取による調査研究であるが、名古屋大学の「疫学研究専門調査委員会」で、研究の目的、方法、および研究倫理的な要点について説明を行い、審査を受け、承認が得られた(承認番号2015-0304)後、各施設において、職員等を対象とした説明会を行い、その後、検体の採取等を開始した。

C. 研究結果と考察

愛知県内の療養施設の協力により研究者分担者である川村久美子准教授のグループ

では3月末までに尿 14 検体、糞便 17 検体、咽頭拭い液 23 検体の合計 54 検体入手し解析を実施した。

尿 14 検体の直接培養の結果、MRSA陽性が1検体、ESBL産生菌を含む第3世代セファロスポリン耐性腸内細菌科菌種 (*Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp.)が2検体より分離された。MDRP、MDRP、VREおよびCREは全ての検体で陰性であった。

糞便 17 検体については、直接培養の結果、ESBL産生菌を含む第3世代セファロスポリン耐性腸内細菌科細菌が4検体から分離された。さらに、ESBL産生菌を対象とした増菌培養により、追加で1検体が陽性となった。便検体の直接培養では、MDRPおよびMDRPは全て陰性であり、VREおよびCREについては、増菌培養を実施しても全ての検体で陰性となった。

咽頭拭い液 23 検体では、直接培養の結果、3検体からMRSAが検出されたが、その他の耐性菌は全て陰性であった。なお、肺炎球菌は1検体で検出されたが、薬剤感受性試験の結果、PRSPと判定された。

研究協力者である藤本修平教授の支援のもと、尿、糞便、咽頭拭い液等の検体については、3月に入り群馬県内の社会福祉法人健生会 特別養護老人ホーム 花の苑の協力で到着し始めたため、現在、各種耐性菌の分離と解析を実施中である。一人の在宅患者や入所者より、尿、便、咽頭拭い液などの全ての検体を採取することが困難な場合も多く、状況に応じて、それらのうちの可能な種類について採取を開始した。そのため、一人の在宅患者や入所者より調査対象とする7種類の耐性菌全てを分離することが困難な状況もあり、それぞれの検体毎に総数で目標を定め、採材することが適当と判断した。

石川県および岐阜県内の協力施設においては、検体の採取の準備が進められたが、手続き等の遅れから、検体の解析を年度内に開始できなかった。平成28年4月より順次、検体採取と耐性菌分離、および分離株の解析を開始する計画である。

愛知県内の入所者等の調査では、MRSAやESBL産生株の分離頻度は、想定された範囲であり、PRSPも1検体より分離されが、その他の4種類の薬剤耐性菌は、分離されず、特に、VREとCREについては、増菌培養を実施しても分離されなかった。この事実は、VREとCREが医療環境や市中環境にも広がりつつある海外諸国と異なり、国内の在宅医療患者や療養型施設の入所者等では、VREやCREは極めて稀な耐性菌であることが示唆され、今後の調査・解析により、その実態が確認、把握できると期待される。

(結 論)

在宅医療患者や療養施設等の入所者に、インフォームド・コンセントの手続きを経て、検体の提供を受け耐性株の分離を実施中である。尿 14 検体、糞便 17 検体、咽頭拭い液 23 検体の合計 54 検体について7種類の耐性菌の分離を試みた結果、咽頭拭い液の3検体(約13%)からはMRSAが、糞便検体の4検体(約23%)からはESBL産生菌を含む第3世代セファロスポリン耐性腸内細菌科菌種が検出された。

D. 健康危険情報

特になし

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

在宅医療患者等における多剤耐性菌の分離率及び分子疫学解析

分担研究課題：在宅医療患者等からの多剤耐性菌の分離及び分子疫学解析

研究分担者 荒川宜親（名古屋大学大学院医学系研究科 分子病原細菌学／耐性菌制御学分野）

研究要旨 研究代表者である荒川宜親の平成 27 年度の分担研究は、まず本研究を実施するために必要な倫理審査を、名古屋大学大学院医学系研究科の「疫学研究専門調査委員会」に申請して、ヒアリングと文書の修正を数度行い 11 月承認を得た。その後、愛知県下の 2 カ所の検体採取協力施設に赴いて説明会を実施した。その後、各施設において咽頭拭い液、糞便、尿などの検体収集を開始し、分担研究者の川村らと共同で 7 種類の耐性菌の分離を試みた。また、群馬県内の 1 施設、および岐阜県内の 4 施設での説明会を実施し、検体採取に必要な資材を提供し、3 月末より、順次検体採取を開始した。愛知県内の 2 施設での検査結果は、共同で実施した川村の報告書に記載するが、平成 27 年度に実施した結果から、一定頻度で在宅医療患者が MRSA や ESBL 産生菌を保菌していることが確認され、平成 28 年度の調査の見通しや計画を立てることができた。

研究協力者（敬称略）

東海大学医学部基礎医学系生体防御学・
教授 藤本修平
社会福祉法人健生会 特別養護老人ホーム
花の苑 施設長 高橋 英郎
岐阜大学医学部附属病院副病院長
生体支援センター長 教授 村上啓雄
岐阜大学医学部附属病院検査部
副技師長 太田浩敏
医療法人 かがやき 理事長 総合在宅
医療クリニックグループ代表 市橋亮
医療法人社団 高德会 高木医院
院長 高木寛治
医療法人社団 光成会 鳥澤医院
院長 鳥澤英紀
医療法人 育寿会 理事長 兼
MIWA 内科胃腸科 CLINIC 院長 三輪佳行
北医療生活協同組合 生協わかばの里
施設長 宮本憲治
愛知県厚生農業協同組合連合会
安城更生病院 院長 浦田士郎
同上 介護老人保健施設あおみ
施設長 木野本武久
デイサービス/ショートステイ/
在宅介護支援事業所
プエトルアズール
理事長 梅田貴之
住宅型有料老人ホーム
エステートドール小牧
理事長 梅田貴之

A. 研究目的

国内外の医療現場では、1980 年代より、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）やバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）が徐々に問題となりはじめ、2000 年頃よりカルバペネムなどに耐性を獲得した多剤耐性緑膿菌（MDRP）や多剤耐性アシネトバクター（MDRA）、さらに 2010 年以降カルバペネムを含む広範な抗菌薬に耐性を獲得した腸内細菌科の細菌（CRE）が、急性期医療機関のみならず、市中環境などからも分離されるようになり国際的に大きな関心事となっている。

急性期医療機関におけるこれらの多剤耐性菌の分離頻度やそれぞれの種類などは、申請者も含め多くの医療関係者や研究者の個別的調査研究とともに厚生労働省の院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）などにより、その実態が把握されている。一方、在宅医療を受けている患者や療養型施設の入所者についても、一定の頻度で上記の多剤耐性菌を保菌している可能性が推定され、病状の悪化に伴う急性期医療機関への転院の際、在宅患者等が多剤耐性菌を急性期医

療機関に持ち込む可能性が指摘されている。これらを鑑みると、在宅医療サービスや療養型施設で保健サービスを受けておられる方々における多剤耐性菌の感染状況を把握することは、大規模な急性期疾患治療病院での多剤耐性菌による院内感染対策を講じる上で重要な情報となることが期待される。しかし、国内では、在宅医療等の現場におけるこの種の多剤耐性菌の実態は殆ど明らかになっていない。そこで、今回の調査研究では、国内の在宅医療患者等における多剤耐性菌の実態を明らかとすることを目的とした。

B. 研究方法

1. 研究対象

- ・ 対象疾患：在宅医療を受けている者および療養型施設の入所者で、本人または代諾者により調査への協力意思が確認できた者
- ・ 対象とする多剤耐性菌：MRSA、VRE、PR(I)SP、MDRP、MDRA、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生菌及びCRE
- ・ 調査対象の検体：咽頭粘液、褥創滲出液、糞便、尿

2. 耐性菌検出方法

採取した検体を、直接または数時間増菌培養した後、種々の抗菌薬を含んだ選択培地に塗布し、一夜37℃で培養後、それぞれの薬剤耐性菌の候補株を分離した。

具体的には、咽頭拭い液については、MRSA、MDRP、MDRA 選択培地および血液寒天平板にスワブを用いて菌を接種し、一夜37℃で培養後、コロニーの発育の有無を観察した。さらに、血液寒天平板でα溶血を示し、コロニーの形態から肺炎球菌が疑われた場合には、オプトヒンテストを実施した。その後、肺炎球菌と確定したものについてMIC測定を行い、PR(I)SPであるかを決定した。尿、糞便および褥創滲出液については、MRSA、VRE、ESBL/KPC、MDRP、MDRA 選択培地に検体を接種し、一夜37℃で培養後、コロニーの発育の有無を観察した。なお、糞便検体については、VREとESBL/KPC産生菌を対象

とした増菌培養を行った。

3. 耐性菌確認方法

各々の選択培地で得られたコロニーについては、PCR およびシーケンスにより耐性遺伝子を検出した。

(倫理面への配慮)

名古屋大学の「疫学研究専門調査委員会」で、研究の目的、方法、および研究倫理的な要点について審査を受け、承認(承認番号 2015-0304)が得られた。承認後、各施設で説明会を行い、その後、本研究を開始した。

C. 研究結果と考察

尿 14検体、糞便 17検体、咽頭拭い液 23検体の合計54検体について解析した。

尿 14検体では、直接培養の結果、MRSA陽性が1検体、ESBL産生菌を含む第3世代セファロsporin耐性腸内細菌科菌種(*Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp.)陽性が2検体であった。MDRP、MDRP、VREおよびCREは全ての検体が陰性であった。

糞便 17検体では、直接培養の結果、ESBL産生菌を含む第3世代セファロsporin耐性腸内細菌科菌種陽性が4検体認められた。さらに、ESBL産生菌を対象とした増菌培養を行ったところ、追加で1検体が陽性となった。直接培養ではMDRPおよびMDRPは全て陰性であり、VREおよびCREについては、増菌培養を行っても全ての検体が陰性であった。

咽頭拭い液 23検体では、直接培養の結果、3検体からMRSAが検出されたが、その他の耐性菌は全て陰性であった。なお、肺炎球菌は1検体で検出されたが、薬剤感受性試験の結果、PRSPであった。

(結論)

在宅医療患者が一定頻度薬剤耐性菌を保有していることが示唆された。

D. 健康危険情報

特になし

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

在宅医療患者等における多剤耐性菌の分離率及び分子疫学解析

分担研究課題：北陸地区での在宅医療及び療養型施設における多剤耐性菌の分離率及び分子疫学解析

研究分担者 飯沼由嗣 （金沢医科大学・臨床感染症学・教授）

研究要旨

石川県を中心とした北陸地区における在宅医療患者等における多剤耐性菌の分離状況を確認し、検出された耐性菌の分子疫学解析を行うことを本研究課題の目的とする。本年度対象としたのは、医療法人社団芙蓉会関連の特別養護老人ホームであることぶき園入所者である。対象とした検体は、咽頭粘液、鼻腔粘液、褥創滲出液、便、尿であり、対象とする多剤耐性菌は MRSA、VRE、PR(I)SP、MDRP、MDRA、ESBL 産生菌、CRE の 7 種類の耐性菌である。同意を得られた入所者より検体を採取し、スクリーニング培地等を用いて耐性菌の検出を行うこととした。

研究協力者

薄田大輔（金沢医科大学臨床感染症学／助教）
河村佳江（金沢医科大学病院中央臨床検査部／
主任臨床検査技師）
金谷和美（金沢医科大学病院中央臨床検査部／
臨床検査技師）
入谷 敦（金沢医科大学高齢医学／助教）
西村勇人（医療法人社団芙蓉会／理事長）
紺谷一浩（医療法人社団紺谷医院／院長）

入所者および医療法人社団紺谷医院が在宅医療を行っている患者のうち、本研究に同意したものとする。なお、同意は、対象者全員から書面による同意を取得し、もし本人からの同意取得が困難な場合には、その保護義務者（代諾者）から同意を取得する者とする。目標患者数として 30～50 名前後を目指す。

2) 対象とする多剤耐性菌

MRSA、VRE、PR(I)SP、MDRP、MDRA、ESBL 産生菌、CRE

3) 調査対象とする検体

咽頭粘液、鼻腔粘液、褥創滲出液、便、尿

4) 検体採取方法

咽頭及び鼻腔は、e スワブレギュラーを用いて採取する。便は、キャップサジ付きの採便管を用いて便を十分量採取する。尿は、滅菌採尿コップなどを利用して、可能な限り皮膚常在菌などの雑菌混入を防ぎ採取する。

5) 薬剤耐性菌検出方法

選択培地を用いた耐性菌の検出を行う。以下のスクリーニング培地を使用する：クロモアガーMRSA スクリーン、クロモアガーMDRP スクリーン、クロモアガーMDRA スクリーン、クロモアガーVRE スクリーン、クロモアガーKPC/ESBL。咽頭鼻腔では、MRSA、MDRP、MDRA のスクリーニング培地を、その

A. 研究目的

北陸地区は高齢者が多く、在宅医療を受けているあるいは介護療養型施設に入所している高齢者も多い。また、これらの高齢者が、様々な疾病により急性期医療機関に入院する機会も多く、医療及び介護サービスの枠組みを超えた薬剤耐性菌伝播拡散のリスクとなっている可能性もある。本研究では、北陸地区において在宅医療を受けている患者あるいは介護療養型施設の入所者を対象に、その薬剤耐性菌保有率の調査と分子疫学的解析を行うことを目的とする。

B. 研究方法

1) 対象患者

医療法人社団芙蓉会関連の介護療養型施設の

他検体では、すべてのスクリーニング培地を用いて耐性菌を検出する。ペニシリン耐性肺炎球菌（PRSP/PISP）の検出には血液寒天培地で検出し、薬剤耐性の確認を行うこととする。

6) 耐性菌の解析

スクリーニング培地上に耐性菌を疑う菌が検出された場合には、通常の同定感受性検査、また表現型での耐性菌の確認を行う。耐性菌と考えられた菌は保存し、分子疫学的解析を行う。具体的には、耐性遺伝子あるいはその他の病原遺伝子の検出、菌のクローナリティーに関連するタイピング（PCR-based ORF Typing, MLST 他）を実施する。

倫理面への配慮 「在宅医療患者等における多剤耐性菌の分離率および分子疫学解析」（受付番号 15-40）として金沢医科大学研究倫理審査委員会の審査を受け、承認を得た。

C. 研究結果

1) 対象施設への説明

今年度は、医療法人社団芙蓉会関連の介護老人施設である特別養護老人ホームことぶき園入所者を対象とした。ことぶき園は、石川県かほく市に位置しており、入所者定員 80 名、職員は看護師 3 名、介護職員 30 名を含む 55 名である。嘱託医師は 3 名であり、そのうちの 1 名が研究協力者である、金沢医科大学高齢医学の入谷である。また来年度以後は関連施設であるグループホーム芙蓉の利用者も対象とする予定である。

ことぶき園の施設管理者および看護師に本研究の趣旨と方法について説明を行った。研究のための検体採取は、主に理事長の西村および同施設の嘱託医師である入谷が中心となっておこない、同施設の看護師がその補助をすることとした。

対象者は、入所者のうち書面による同意（本人または代諾者）を取得できた者とした。

2) 同意の取得と検体採取および検査の実施

数度にわたる施設内での説明を行い、2016 年 3 月より、入所者に対する同意の取得と検体採取を開始した。目標患者数は 30～50 名程度としている。また、菌株付随情報として、耐性菌が分離された者の性別と年齢、検体名、検体採取日、菌分離日、分離県名、菌分離 3 ヶ月以内の入院歴の有

無と投薬歴の有無、および「投薬有り」で薬剤名の調査が可能な場合は抗菌薬名を分離株毎に記録し、菌株番号とともに解析に用いることとした。

採取された検体は、飯沼または薄田により金沢医科大学まで運搬され、研究協力者の河村および金谷により、微生物学的検査が行われる。検出された耐性菌の遺伝子解析については、飯沼、薄田、河村が中心となって、金沢医科大学臨床感染症学実験室にて実施する。

D. 考察

ことぶき園入所者は高齢者であり、いくつかの基礎疾患を有する者が多い。特別養護老人ホームであるため、入所者の介護度も高く、さまざまな疾病により、医療機関を受診あるいは入院するケースも多い。日本呼吸器学会では、市中肺炎と院内肺炎の間に位置する概念として、欧米で用いられる HCAP（医療ケア関連肺炎）に対して、介護施設入所者を含めて、医療・介護関連肺炎（NHCAP）を用いることを提唱し、広くわが国に受け入れられている。その定義として、長期療養型病床群もしくは介護施設入所者や介護を必要とする高齢者が発症した肺炎としている。この中で、過去 90 日以内の広域抗菌薬投与、経管栄養が耐性菌のリスク因子とされており、その際に想定される代表的な耐性菌として、緑膿菌（MDRP を含む）、ESBL 産生菌、MRSA が挙げられている。MDRA や VRE の検出頻度はわが国では高くはないが、潜在的な保菌者の存在の可能性もある。また、近年カルバペネマーゼを産生する CRE のアウトブレイクが全国で発生しており、介護施設における保菌者の存在の可能性もある。

本研究において対象とする検体のうち、咽頭粘液、鼻腔粘液に存在する薬剤耐性菌は主に気道～肺感染症の起因菌として、また便や尿に存在する薬剤耐性菌は主に尿路感染症の起因菌となりうる。このため、その保有率調査は適切な抗菌薬初期治療に有用であることと、耐性菌保有患者に対する適切な感染予防対策の早期実施において有用な情報となることが期待される。

E. 結論

介護老人施設での多剤耐性菌保菌調査のための準備を行い、検体採取および耐性菌の分離を開

始した。来年度以後、検体採取の継続および検出された耐性菌の分子疫学解析を行う予定である。

2. 学会発表
なし

F. 健康危険情報
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定も含む。)

G. 研究発表
1. 論文発表
なし

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他

在宅医療患者等における多剤耐性菌の分離率及び分子疫学解析

分担研究課題：在宅医療患者等における多剤耐性菌の分離率及び分子疫学解析

研究分担者 川村 久美子（名古屋大学大学院医学系研究科・医療技術学専攻・病態解析学講座）

研究要旨 平成 27 年度の分担研究では、名古屋大学医学部生命倫理審査委員会にて倫理審査を受けた後（11 月承認）、愛知県下の検体採取協力施設にて説明会を実施した。その後、尿、糞便、咽頭拭い液などの検体収集を開始し、7 種類の耐性菌の分離を試みた結果、咽頭拭い液からは MRSA（約 13%）が、糞便検体からは ESBL 産生菌を含む第 3 世代セファロスポリン耐性腸内細菌科菌種（約 23%）が検出された。以上の結果より、在宅医療患者が一定頻度薬剤耐性菌を保菌していることが示唆された。

研究協力者

北医療生活協同組合 生協わかばの里
施設長 宮本憲治
愛知県厚生農業協同組合連合会
安城更生病院 院長 浦田士郎
同上 介護老人保健施設あおみ
施設長 木野本武久
デイサービス/ショートステイ/
在宅介護支援事業所
プエトルアズール
理事長 梅田貴之
住宅型有料老人ホーム
エステートドール小牧
理事長 梅田貴之

在宅医療を受けている患者や療養型施設の入所者についても、一定の頻度で上記の多剤耐性菌を保菌している可能性が推定され、病状の悪化に伴う急性期医療機関への転院の際、在宅患者等が多剤耐性菌を急性期医療機関に持ち込む可能性が指摘されている。これらを鑑みると、在宅医療サービスや療養型施設で保健サービスを受けておられる方々における多剤耐性菌の感染状況を把握することは、大規模な急性期疾患治療病院での多剤耐性菌による院内感染対策を講じる上で重要な情報となることが期待される。しかし、国内では、在宅医療等の現場におけるこの種の多剤耐性菌の実態は殆ど明らかになっていない。そこで、今回の調査研究では、国内の在宅医療患者等における多剤耐性菌の実態を明らかとすることを目的とした。

A. 研究目的

これまでに、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）やバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）が臨床現場で問題となり、カルバペネムなどに耐性を獲得した多剤耐性緑膿菌（MDRP）や多剤耐性アシネトバクター（MDRA）、さらに近年カルバペネムを含む広範な抗菌薬に耐性を獲得した腸内細菌科の細菌（CRE）が急性期医療機関のみならず、市中環境などからも分離されるようになり大きな関心事となっている。

急性期医療機関におけるこれらの多剤耐性菌の分離頻度やそれぞれの種類などは、申請者も含め多くの医療関係者や研究者の個別的調査研究とともに厚生労働省の院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）などにより、その実態が把握されている。一方、

B. 研究方法

1. 研究対象

- ・対象疾患：在宅医療を受けている者および療養型施設の入所者で、本人または代諾者により調査への協力意思が確認できた者
- ・対象とする多剤耐性菌：MRSA、VRE、PR(I)SP、MDRP、MDRA、ESBL 産生菌及び CRE
- ・調査対象の検体：咽頭粘液、褥創滲出液、糞便、尿

2. 耐性菌検出方法

採取した検体を、直接または数時間増菌培養した後、種々の抗菌薬を含んだ選択培地に塗布し、一夜 37℃で培養後、それぞれの薬剤耐性菌の候補株を分離した。

具体的には、咽頭拭い液については、MRSA、MDRP、MDRA 選択培地および血液寒天平板にスワブを用いて菌を接種し、一夜 37℃で培養後、コロニーの発育の有無を観察した。さらに、血液寒天平板で α 溶血を示し、コロニーの形態から肺炎球菌が疑われた場合には、オプトヒンテストを実施した。その後、肺炎球菌と確定したものについて MIC 測定を行い、PR(I)SP であるかを決定した。尿、糞便および褥創滲出液については、MRSA、VRE、ESBL/KPC、MDRP、MDRA 選択培地に検体を接種し、一夜 37℃で培養後、コロニーの発育の有無を観察した。なお、糞便検体については、VRE と ESBL/KPC 産生菌を対象とした増菌培養を行った。

3. 耐性菌確認方法

各々の選択培地で得られたコロニーについては、PCR およびシーケンスにより耐性遺伝子を検出した。

(倫理面への配慮)

名古屋大学の「疫学研究専門調査委員会」で、研究の目的、方法、および研究倫理的な要点について審査を受け、承認（承認番号 2015-0304）が得られた。承認後、各施設で説明会を行い、その後、本研究を開始した。

C. 研究結果と考察

尿 14検体、糞便 17検体、咽頭拭い液 23 検体の合計54検体について解析した。

尿 14検体では、直接培養の結果、MRSA 陽性が1検体、ESBL産生菌を含む第3世代セファロsporin耐性腸内細菌科菌種 (*Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp.) 陽性が2 検体であった。MDRP、MDRP、VREおよびCRE は全ての検体が陰性であった。

糞便 17検体では、直接培養の結果、ESBL 産生菌を含む第3世代セファロsporin耐性腸内細菌科菌種陽性が4検体認められた。さらに、ESBL産生菌を対象とした増菌培養を行ったところ、追加で1検体が陽性となった。直接培養ではMDRPおよびMDRPは全て陰性であり、VREおよびCREについては、増菌培養を行っても全ての検体が陰性であった。

咽頭拭い液 23検体では、直接培養の結果、3検体からMRSAが検出されたが、その他の耐性菌は全て陰性であった。なお、肺炎球菌は1検体で検出されたが、薬剤感受性試験の結果、PRSPであった。

(結 論)

在宅医療患者が一定頻度薬剤耐性菌を保有していることが示唆された。

D. 健康危険情報

特になし

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究倫理審查關係資料

研究計画概要書

研究課題名	在宅医療患者等における多剤耐性菌の分離率及び分子疫学解析
研究責任者 (所属・職名・氏名)	名古屋大学大学院医学系研究科 分子病原細菌学/耐性菌制御学・教授・荒川 宜親
研究分担者 (所属・職名・氏名)	名古屋大学大学院医学系研究科・病態解析学講座・准教授・川村久美子 名古屋大学大学院医学系研究科・分子病原細菌学/耐性菌制御学・ 講師・木村幸司
研究組織 共同研究者 (所属・職名・氏名)	金沢医科大学・臨床感染症学・教授・飯沼由嗣 東海大学医学部基礎医学系生体防御学・教授・藤本修平 社会福祉法人健生会 特別養護老人ホーム花の苑・施設長・高橋 英郎 岐阜大学医学部附属病院副病院長・生体支援センター長・教授・村上啓雄 岐阜大学医学部附属病院検査部・副技師長・太田浩敏 金沢医科大学 臨床感染症学・助教・薄田大輔 金沢医科大学病院 中央臨床検査部・主任臨床検査技師・河村佳江 金沢医科大学病院 中央臨床検査部・臨床検査技師・金谷和美 金沢医科大学 高齢医学・助教・入谷 敦 医療法人社団 芙蓉会・理事長・西村勇人 医療法人社団 紺谷医院・院長・紺谷一浩 医療法人 かがやき・理事長・総合在宅医療クリニックグループ代表 市橋亮一 医療法人社団 高德会 高木医院・院長・高木寛治 医療法人社団 光成会 鳥澤医院・院長・鳥澤英紀 医療法人 育寿会・理事長、MIWA 内科胃腸科 CLINIC・院長・三輪佳行 北医療生活協同組合 生協わかばの里・施設長・宮本憲治 愛知県厚生農業協同組合連合会 安城更生病院・病院長・浦田士郎 同上 介護老人保健施設あおみ・施設長・木野本武久 デイスサービス/ショートステイ/在宅介護支援事業所プエトルアズール・ 理事長・梅田貴之 住宅型有料老人ホームエステートドール小牧・理事長・梅田貴之
研究事務局 (機関の名称・住所・連絡先)	名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学/耐性菌制御学 木村幸司 〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞 65 TEL: 052-744-2106, FAX: 052-744-2107
研究の意義・目的	<p>これまでに、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) やバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) が臨床現場で問題となり、カルバペネムなどに耐性を獲得した多剤耐性緑膿菌 (MDRP) や多剤耐性アシネトバクター (MDRA)、さらに近年カルバペネムを含む広範な抗菌薬に耐性を獲得した腸内細菌科の細菌 (CRE) が急性期医療機関のみならず、市中環境などからも分離されるようになり大きな関心事となって来た。</p> <p>急性期医療機関におけるこれらの多剤耐性菌の分離頻度や種類などは、申請者も含め多くの医療関係者や研究者の個別的調査研究とともに厚生労働省の院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) などにより、その実態が把握されている。一方、在宅医療を受けている患者や療養型施設の入所者についても、一定の頻度で上記の多剤耐性菌を保菌している可能性が推定され、病状の悪化に伴う急性期医療機関への転院の際、在宅患者等が多剤耐性菌を急性期医療機関に持ち込む可能性が指摘されている。これらを鑑みると、在宅医療サービスや療養型施設で保健サービスを受けておられる方々における多剤耐性菌の感染状況を把握することは、大規模な急性期疾患治療病院での多剤耐性菌による院内感染対策を講じる上で重要な情報となることが期待される。しかし、国内では、在宅医療等の現場におけるこの種の多剤耐性菌の実態は殆ど明らかになっていない。そこで、今回の調査研究は、国内の在宅医療患者等における多剤耐性菌の実態を明らかとすることを目的とする。</p> <p>研究では、在宅患者等の咽頭拭い液や便等を対象に、感染症法で届け出が求められている CRE、MDRA、MRSA、VRE、MDRP、PR(I)SP (ペニシリン耐性肺炎球菌) とともに、近年、市中での増加が著しく医療環境でも院内感染が問題視されている ESBL (基質スペクトル拡張型 β-ラクタマーゼ) 産</p>

	<p>生菌の7種類の薬剤耐性菌についてそれらの分離率や分離株の遺伝的、分子疫学的解析を行う。初年度は、研究を実施する上で必要な研究計画の倫理審査を受け、承認された後に、在宅患者等からの多剤耐性菌の分離を開始し、引き続きCREやESBL産生菌の解析を開始する。二年目には、MDRPとMDRAについて解析し、最終年度は、MRSAとVRE、PR(I)SPについての解析を行い、研究結果のとりまとめを行う計画である。</p> <p>本調査研究により、急性期医療機関における多剤耐性菌のアウトブレイクを防止する上で、CREやMDRAなどの多剤耐性菌の侵入門戸としての可能性が指摘されている在宅医療等の現場における多剤耐性菌の保菌率等の実態を把握し、在宅医療現場等における多剤耐性菌対策の必要性の有無やその内容などを検討する上で重要な科学的根拠を与える。つまり、本研究の実施により、これまで国内でその実態が不明であった、在宅医療患者等における主要な7種類の多剤耐性菌の分離率とともに耐性株の細菌学的、遺伝的、分子疫学的特長が明らかとなることで、厚生労働省や自治体が在宅医療患者等に対する感染制御などの方策を検討するために必要な基本的情報や科学的根拠を確保し、地域および全国における多剤耐性菌対策のための行政施策を適切に実施する上で貢献することが期待される。</p>
主な選択基準	<p>対象疾患：在宅医療を受けている者および療養型施設の入所者 選定理由：急性期医療機関以外で保健的サービスを受けている者における多剤耐性菌の実態が不明なため。</p>
研究方法（多施設共同研究の場合は、本学の役割も記載）	<p>調査の対象は、在宅や療養型施設で保健サービスの提供を受けている高齢者、障がい等を持つ方。</p> <p>愛知県、岐阜県、石川県、群馬県の協力施設で、在宅や入所等により保健サービスを受けている高齢者や障がい者等について各協力施設あたり20-30程度を目処に非侵襲的手法により粘膜面などの体表面より粘液や膿、便、尿などの検体を採取し、MRSAやESBL産生菌、CREなどを含む7種類の薬剤耐性菌の分離とともに詳しい分子疫学的解析を実施する。</p> <p>各協力施設で、検体の採取を実施し、薬剤耐性菌分離と詳しい遺伝子解析や分子疫学解析は、名古屋大学および金沢医科大学で行う。</p> <p>以下に、検体採取の協力施設（予定）を列挙する。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 社会福祉法人健生会 特別養護老人ホーム花の苑（指定介護老人福祉施設）群馬県 2. 医療法人かがやき（総合在宅医療クリニックグループ）岐阜県 3. 医療法人社団 高德会 高木医院 岐阜県 4. 医療法人社団 光成会 鳥澤医院 岐阜県 5. 医療法人 育寿会 MIWA 内科胃腸科 CLINIC 岐阜県 6. 医療法人社団 芙蓉会 石川県 7. 医療法人社団 紺谷医院 石川県 8. 北医療生活協同組合 生協わかばの里（介護老人保健施設）愛知県 9. 愛知県厚生農業協同組合連合会 安城更生病院 介護老人保健施設あおみ 愛知県 10. デイサービス/ショートステイ/在宅介護支援事業所 プエトルアズール 愛知県 11. 住宅型有料老人ホームエステートドール小牧 愛知県 <p>検体の採取は、上記の者および必要な場合は上記の者の監督と指導の下にあり検体採取の指示を受けた看護師等の職員より行われる。</p>
研究期間	承認後から2018年3月末日まで
インフォームド・コンセントの方法（説明を行う者等）	各研究協力施設の担当者等に対し研究の内容及実施方法に関して倫理的側面等の関する説明会を開催した後、研究を開始する。調査対象者または代諾者に、本調査・研究の目的や方法、倫理的な項目について説明し、書面により承諾を得る。また、掲示により、調査への協力辞退の可能性も周知する。
個人情報の管理体制（個人情報管理者、連結表の管理体制等）	研究では個人情報扱わず連結表も作成しない。 ただし、同意書の管理は、各検体採取協力施設の長が行う。
研究で収集した試料・同意書の保管場所、研究終了後の試料の取扱い	<p>調査対象者またはその代諾者の同意書は名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学/耐性菌制御学分野研究室ではなく、本研究に協力する医療機関や療養施設において鍵つきの書棚等に保管する。</p> <p>分離された耐性菌株は、菌株付帯情報と菌株番号のみを付して名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学/耐性菌制御学分野研究室および金沢医科大学臨床感染症学研究室にて保管する。</p>

効果安全性評価委員会 (委員の職名・氏名・審査間隔)	調査対象者に対する侵襲性はない。
被験者に重篤な有害事象が生じた場合の対処方法	該当無し (調査対象者に対する侵襲性はないため。)