

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

薬剤耐性菌レファレンスセンターおよび報告体制の整備

研究分担者 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 鈴木里和

研究協力者 大阪健康安全基盤研究所 微生物部細菌課 河原 隆二
横浜市衛生研究所 検査研究課 松本裕子
国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 松井真理
国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 鹿住祐子
国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 川上小夜子

研究要旨 平成29年3月に結核感染症課長通知が発出され、CREなど全数届出対象の薬剤耐性菌については地方衛生研究所において試験検査を実施することとなった。今年度は、実施された試験検査結果の報告形式を整備し、感染症サーベイランスシステム（NESID）の病原体検出情報システムを通じて報告できる体制を整備した。一方、一部の報告項目および報告内容については今後追加で検討が必要と思われた。また、試験検査の精度を担保するためには、今後ディスク法等の画像データの蓄積が必要であり、その体制を整備することが今後の課題であると考えられた。

A．研究目的

地方衛生研究所（地研）における薬剤耐性菌の解析体制は、平成23年以降の通知や事務連絡、平成26年のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症の5類全数届出疾患への制定といった行政的枠組みの整備、平成27年の薬剤耐性菌レファレンスセンター発足などを経て段階的に整備が進められた。地研の解析担当者に対する技術研修も平成23年からの模索的な個別研修から始めることで研修内容の検討を進め、平成28年度からは20-30名を対象とした薬剤耐性菌解析研修コースとして整備した。これらの動きを経て、平成29年3月に結核感染症課長通知「CRE感染症等に係る試験検査の実施について」が発出され、CREなど全数届出対象の薬剤耐性菌については地方衛生研究所において耐性遺伝子の検査を実施するこ

ととなり、我が国における薬剤耐性菌ラボネットワーク構築の第一段階は終了したと考えられる。

今後は、検査結果の集計と国民への還元および精度管理体制構築が必要となる。今年度は、各地研で実施されている主にCREの検査結果を、感染症サーベイランスシステム（NESID）の病原体検出情報システムを通じて報告し、集計解析可能な体制を整備した。また、それらのデータの質を担保するための体制について検討を行った。

B．研究方法

1. 薬剤耐性菌検査結果報告体制の整備

NESID 病原体検出情報システムは、入力形式がある程度システムとして固定されているため、新規に対象となった薬剤耐性菌の検査結果については対応する入力フォームが存在しない。また入力システムの変更

はシステム改修を伴うため、NESID システム更新のタイミングに合わせる必要がある。そのため、現状のシステム内で、必要な情報を地研が間違いなく入力できる方法を検討するため、NESID 病原体サーベイランスシステムの確認を行った。

また、今年度は最初にカルバペネム耐性腸内細菌科細菌を対象とし地研が報告すべき検査内容および検査結果の入力方法について、各ブロックのレファレンスセンターと検討の上、統一した形式を作成し、一部の地研に検査結果の試験入力を依頼した。これらの過程により認識された問題点等を検討し、実際的な入力形式を作成した。

2. 試験検査の精度管理手法の検討

地研より受けた薬剤耐性菌の試験検査結果の問い合わせ内容およびその結果等を整理し、それらをデータベース化するためのテンプレートを検討した。

C. 研究結果

1. NESID 病原体検出情報システムの利用可能な領域として、テキストの自由入力が可能な型別結果の中の「特記すべき生化学的性状等」が考えられた。この項目内には、100byte まで入力可能で、カンマと半角カナ以外の文字は使用可能であった。

入力する試験検査項目については、前出の通知の別添の検査法において「原則として実施する試験項目」の入力を必須とした。通知別添において「推奨される検査項目」とされているものについては、カルバペネマーゼ産生もしくはカルバペネマーゼ遺伝子の検出に関わるものについての報告を行うこととした。入力文字数に制限があることから、カルバペネム耐性に関与しうるものの、カルバペネマーゼとして分類されない β -ラクタマーゼ遺伝子の検出に関しては現時点では報告に含めないこととした。

試験結果については、陰性(-)、陽性(+)のほか、表現型判定では判定が困難であった場合の入力方法(?)を定め、未実施の場合(*)も入力するようにし、判別できるようにした。また、国内ですでに定着している IMP 型のカルバペネマーゼ遺伝子については、地域によって遺伝子型の分布が異なることから、シークエンスによる遺伝子型の入力方法も定めた。具体的には、IMP 型カルバペネマーゼ遺伝子の PCR による検出のみであった場合は「IMP+」とし、遺伝子型まで判明していたら IMP6 (*bla*_{IMP-6}であった場合)と入力することとした。

各項目の区切りはセミコロンとし、必須入力項目のみのパターンと、推奨される検査項目も含まれるパターンの 2 パターンを作成し、入力項目についても指定した。

例：IMP+;NDM-;KPC-;OX48-;MB+;BA?

誤入力を防ぐため、エクセルファイルを用いてプルダウン形式で検査結果を選択すると、上記入力形式が作成させるツールを作成し、入力に際しこのエクセルツールからコピーペーストをしてもらうこととした。CRE については菌種名も重要な情報であるため、菌種名の登録についても統一した。CRE に含まれる多くの菌種は現在の NESID システムでは選択できないことから、菌種入力をする「検出病原体情報」は「その他の細菌」を選択し、菌種名はテキスト記載することとした。菌種名は綴りの誤入力や属名記載のばらつき(例：*E. coli* と *Escherichia coli*)を防ぐため、これも、前述のエクセルツールに腸内細菌科細菌の菌名リスト追記し、それらからコピー&ペーストでの入力を推奨した。

上記形式を作成後、協力が得られた地研において試験入力を実施した。試験入力の過程で、形式外の入力となる可能性の高い

項目を洗い出し、入力手順書に注意事項として明記することとした。また、NESIDシステム上必須入力項目であるものの集計には利用しない項目（例「検出方法」についても入力内容は統一することとした。

これらの内容を整理した入力手順書（別添）を各ブロックのレファレンスセンターを通じて地研に配布し、平成29年に実施した検査について入力を依頼した。

2. 試験検査の精度管理手法の検討

地方衛生研究所からの問い合わせ件数の推移を下図に示す。平成29年度は2月時点



での集計値であるが、すでに40件を超えており、過去6年間で最も多い。平成28年度末に発出された通知により、各地研での薬剤耐性菌の試験検査実施数が増加したためと思われる。

問い合わせ内容としては、非典型的なディスク法の結果の解釈に関するものが多かった。それらについては、ディスク法の画像をもとに、メール等で数回のやり取りと追加試験を依頼し、原因を確認した。また、原因が判明しない場合は、菌株もしくはDNAプラグを送付してもらい、全ゲノムシーケンスなどの追加解析を感染研で実施した。問い合わせにより判明した非典型的なディスク法の原因として、感性菌のコンタミネーションおよび、非腸内細菌科細菌の誤同定があった。

ディスク法の画像は、カルバペネム耐性

度のほか、コロニーの性状、阻止円の詳細（二重阻止円、阻止円内小コロニー、辺縁の形状）など多くの情報が得られ、試験結果の解釈の契機となるが多かった。

今後、各地研からの問い合わせに際しては解釈が困難となるデータの呈示のみでなく、定型的に実施しているディスク法の結果を貼り付けできる問い合わせ用のフォーマットを作成することが有用と考えられた。
D. 考察

平成28年3月の地研における薬剤耐性菌の試験検査の実施に関する通知により、今後は試験検査結果の集計と還元、および試験の精度管理がラボネットワークとして取り組む重要な課題になると思われる。

NESID病原体サーベイランスシステムはすでに各自治体や感染研の担当部署に端末が配備されており、セキュリティやヘルプデスクなど運営体制も整備されている。報告された結果は、一括してダウンロード可能で、集計解析もエクセルベースで柔軟に実施可能である。また他の病原体において運営実績もあるため、報告システムとしては十分である。しかし、薬剤耐性菌の試験検査結果を報告するためのシステム（報告項目や、病原体名称など）が整備されていない。加えて、今年度報告形式を統一する過程において、どのような試験検査項目を報告するのか、報告形式をどのように規定するか等の検討が不十分であることが明らかとなった。現時点では、入力文字数の制限もあることから、必要最小限の情報のみ報告できる形式としたが、今後はカルバペネマーゼ遺伝子以外のβラクタマーゼ遺伝子の検出結果についても報告すべきか等の検討が必要になると思われる。また、特にカルバペネマーゼ産生菌の試験法は毎年のように新しい方法が提唱されるため、そ

の感度特異度、実施の推奨度についても毎年検討を続ける必要がある。

報告された試験検査結果は、地域別の検出状況を迅速に還元し、各地域での耐性菌の広まりを評価する必要がある。各地域の特性を把握するためには全国の集計結果も必要となる。平成29年の全国の試験検査実施分については、報告形式が定まるまで時間を要したため、1年分をまとめて集計解し、その結果を公表する予定であるが、今後は半年ごとといったより迅速な集計を試みる。

精度管理については、画像情報をデータベース化し、地研担当者と共有することが長期的にラボネットワークの試験検査精度の向上に重要と考えられた。ディスク法の阻止円径パターンの判読には、数多くの試験結果を経験することが重要である。自施設のデータ以外に、他施設の様々な試験検査結果を共有することで、継続的な研修効果とともに、新規薬剤耐性菌の迅速な把握にも有用であると考えられた。ただし画像データのデータベース化はテキストデータにくらべ煩雑であるため、その手法については今後検討が必要である。

また試験検査の精度を担保するためには、可能な限り統一した試験法が多くの施設で実施されることが望ましい。薬剤耐性菌、特にカルバペネマーゼ産生菌の検出方法は様々な試薬メーカーが独自の検査キット等を販売しており、中には十分な感度特異度が得られないものもある。海外で普及している試験法であっても、分離される耐性菌の性状が異なる我が国では検討が必要なものもある。そのため、可能なかぎり病原体検出マニュアルに準じた試験を実施してもらえるよう依頼し、また最新かつ最適な検査法を提案できるように常にマニュアルの改訂を進める必要があると思われる。

E．結論

地方衛生研究所における薬剤耐性菌の試験検査体制整備の第一段階は終了し、ほとんどの地研での試験の実施が可能となった。今後は実施された試験結果の集計と解析、結果の公表方法の検討および、試験精度の担保が主な課題になると考えられる。

F．健康危険情報

なし

G．研究発表

論文発表

なし

学会発表

なし

H．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