

別添 1

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28年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 荒川 宜親

平成29(2017)年 3月

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 5

II. 分担研究報告書

荒川 宜親

愛知県等で分離された菌株の解析 10

飯沼 由嗣

石川県内の介護施設等入所者由来検体からの耐性菌株の分離と同定、遺伝子解析
(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) 13

川村 久美子

愛知県内および群馬県内の介護施設等入所者由来検体からの耐性菌株の
分離と同定、遺伝子解析 17

村上 啓雄

岐阜県内の介護施設等入所者における検体採取と菌株解析
(岐阜県内の在宅医療患者および特別養護老人ホームにおける
検体採取と菌株解析) 21

藤本 修平

群馬県内の介護施設等入所者における検体採取
(介護施設等入所者からの検体採取等における方法と研究倫理的
についての検討と整備) 24

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 (平成 28 年度は無し) 31

IV. 研究成果の刊行物・別刷 (平成 28 年度は無し)

V. 参考文献・資料等 (査読なしを含む、本研究の成果物ではありません) . 31
以後のページは、それぞれの文献等のページを記載しています。

平成 28 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」

(H27-医療-一般-012)

班員等名簿(敬称等略)

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 (50音順)	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
	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(微生物学研究室)	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 生体支援センター長	教授
研究協力者 (順不同)	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 分子病原細菌学・耐性菌制御学分野	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 院長
	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 施設長
	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 エステートドールビル小牧	理事長 理事長
	横山 覚	名古屋大学大学院医学研究科 分子病原細菌学・耐性菌制御学分野	博士課程 学生
	北岡 一樹	同 上	博士課程 学生
	金山 堯人	同 上	修士課程 学生
	金地 玲生	同 上	修士課程 学生
	法月 千尋	名古屋大学大学院医学研究科・ 医療技術学専攻・病態解析学講座	修士課程 学生
林 謙吾	同 上	修士課程 学生	

別添 3

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 本調査研究を開始するにあたり、初年度の平成 27 年度に、研究計画書等の倫理審査書類を作成し、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」および金沢医科大学、群馬大学、岐阜大学の研究倫理審査の委員会の承認を得て研究を開始した。平成 27 年度末より平成 28 年度にかけて愛知県、岐阜県、群馬県、石川県および富山県の高齢者施設（介護施設、療養施設）の入所者や在宅患者または代諾者の同意を得て、咽頭スワブ、便、尿などの提供を受け、それらの検体より VRE、MRSA、CRE、ESBL 産生菌、MDRA、MDRP、PR(I)SP の 7 種類の薬剤耐性菌について、統一あるいは同等の感度等のスクリーニング法を用いて分離と同定を試み、得られた菌株について詳しい遺伝子解析を開始した。その結果、調査研究への協力が得られた施設入所者や在宅医療患者の総数は目標の 200 名を超えるとともに、各被験者の検体からは、MRSA や ESBL 産生株が一定の頻度で分離された。MRSA の分離頻度は、施設間にかなりのばらつきが見られ、分離された施設では 2.9%-9.5% であり、ESBL 産生株のそれは、分離された施設では 11.8%-57.1% とばらつきが見られた。一部の施設での MRSA と ESBL 産生菌の分離頻度は、急性期医療機関の入院患者におけるそれらの分離率や市中の健常者における保菌率より高い状況が確認された。しかし、幸いなことに、国際的に問題となっている、CRE や MDRA、MDRP や VRE は研究時点では分離されず、また、肺炎球菌については disk 拡散法で「耐性」と判定される株は検出されなかった。なお、MRSA や ESBL 産生菌の分離頻度の高い施設では、それらの施設内拡散が発生している可能性もあり、平成 29 年度には、分離株の型別や株相互の関連性などについて遺伝的観点から詳しく解析する計画である。

研究分担者（敬称略、50 音順）

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 医療技術学
専攻 病態解析学講座（微生物学研究室）
准教授 川村久美子
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

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
エステートドーフイル小牧
理事長 梅田貴之

研究協力者（敬称略）

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
准教授 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
医療法人社団 光成会 鳥澤医院

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、尿などの検体の提供を受ける必要があり、それを可能とするため、平成 27 年度に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、褥瘡拭い液

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℃ 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℃ 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のものについて disk 拡散法により、PR(I)SP であるかを判定した。尿、糞便および褥瘡滲出液については、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℃ 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、通常の細菌同定試験法に加え、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の検出と確認を実施した。

(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2017年3月末までに尿 63検体、糞便52検体、咽頭拭い液82検体の合計197検体入手し耐性菌の分離と解析を実施した。

咽頭拭い液および尿検体の培養の結果、MRSAが11検体で陽性と判定された。また、咽頭拭い液、便、および尿検体の培養の結果、第3世代セファロsporin耐性腸内細菌科細菌

が25株、CREが疑われる腸内細菌科細菌株が6株分離された。しかし、VRE、MDRP、MDRAおよびCREは全ての検体で陰性であった。

ESBL産生大腸菌の解析の結果、CTX-M group-1産生株が8株、group-9産生株が42株確認された。ESBL産生肺炎桿菌の解析ではCTX-M group-1が3株、group-9が2株確認され、ESBL産生*Proteus*属では、group-2産生株が1株確認された。

ESBL産生大腸菌50株についてO血清型別や系統発生群、multilocus sequence typing(MLST)を解析した結果、世界的流行型(international clone)であるO25-B2-ST131が31株確認され、それらの産生するCTX-M型の内訳は、CTX-M-3が3株、CTX-M-15が4株、CTX-M-55が1株、CTX-M-24が3株、CTX-M-27が20株であった。以上の結果から、在宅患者においても、一定の割合で世界的流行株であるCTX-M-15産生大腸菌O25-B2-ST131が保菌されていること、またセフトラジムにより高い耐性傾向を示す進化型ESBLであるCTX-M-15、-55、-27が多く確認された。

研究分担者の飯沼らのグループは石川県内の介護療養型老人保健施設と特別養護老人ホームにおいて調査研究を行った。前者の施設では、74名の入所者におけるMRSAとESBL産生菌の分離率は、それぞれ、12.2%と21.6%であった。後者の施設では、34名の入所者におけるMRSAの分離率は2.9%、ESBL産生菌の分離率は11.8%であった。しかし、両施設とも、VRE、MDRP、MDRAは分離されなかった。分離されたESBL産生菌21株はすべて大腸菌であり、CTX-M遺伝子別では、CTX-M-1 Group:10株、CTX-M-2 Group : 1株、CTX-M-9 Group : 10株となった。またST131であると推定された株が17株(81%)と大多数を占めた。

研究分担者の村上らのグループは、岐阜県内の在宅医療患者診療を行う2施設で5月から6月にかけてそれぞれ21名と11名の合計32名から検体採取を行った。検出された薬剤耐性菌率はそれぞれの施設においてMRSAは4.7%、9.0%、ESBL産生菌(糞便)は、52.3%、36.3%であった。しかし、両施設とも、PRSP、VRE、MDRP、MDRA、CREは検出されなかった。一方、特別養護老人ホーム1施設での検体採取は、入所者65名から11月に検体採取を行い、詳しい菌株解析は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(微生物学研究室)において実施中である。

研究分担者である藤本は、平成27年4月より、従来の臨床研究指針と疫学研究指針に替わって「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」が施行されたことを受け、通常、医学系研究の専門家が常駐ないし勤務しない在宅、介護施設等において薬剤耐性菌の分離状況把握等の調査を実施するにあたり、検体採取などの際に倫理性、科学性、信頼性を保証して行くため、現行の指針と今回の調査の実績に照らし合わせて、在宅等における耐性菌の分離状況に関する調査を評価し、今後、同様の調査を円滑に進めて行く際に留意すべき現実的な方法を模索し、一方で、今後の倫理指針において考慮すべき点の提案を行うことを目指して研究を実施した。さらに、検体採取の科学性、信頼性の保証のための方法についての検討を試みた。その結果、現在の指針に沿うと、1)倫理審査はそれぞれの検体採取施設が受ける必要があるが、最初に研究責任者の施設で受審しておけば迅速審査の対象となる可能性が大きいこと、2)インフォームド・コンセントについては、鼻腔・咽頭の擦過、褥瘡拭い液の採取を軽微な侵襲とすれば簡略化が可能であるが、侵襲があると判断する限り、オプトアウトを利用した承諾の対象とはならない可能性が残ることなどが明らかとなった。

研究代表者である荒川のグループは、藤本のグループや村上のグループと協力しつつ、川村のグループとも連携しつつ、主に、群馬県内の1施設および岐阜県内の2施設の入所者等から分離された菌株について、詳しい解析を担当した。その結果、3施設の在宅患者等からはPR(I)SP、VRE、MDRP、MDRAは分離されなかったものの、総合的に見た場合、MRSAの分離率は4.8-9.5%、ESBLの分離率が29-57.1%であることが確認された。

(結 論)

在宅医療患者や療養施設等の入所者からは、全体を通じて、これまでに、PR(I)SP、VRE、MDRP、MDRA は分離されなかったものの、MRSAは2.9% - 9.5%、ESBL産生株は11.8% - 57.1%の割合で分離されることが明らかとなった。これらの分離率は、施設間で大きく異なり、しかも、急性期病院におけるそれぞれの分離率より高率な事例もあり、今後、療養型施設、介護施設の入所者や在宅医療患者におけるMRSAおよびESBL産生菌等の動向を定期的にモニタリングする必要性とその方法について

検討すべき時期に来ていることが示唆された。
なお、これらの施設の入所者等では、自主的な意思決定や意思疎通が難しい高齢者が多く、また、廃棄物である便や尿、さらに体表面からの非侵襲的方法による検体の採材法を採用する今回のような調査を実施する場合のインフォームド・コンセント、インフォームド・アセント等のあり方について、検討する余地が残されている。

D. 健康危険情報

一部の高齢者施設等では、入所者等からの、MRSA や ESBL 産生菌の分離率が、急性期病院におけるそれぞれの分離率を上回っている施設も存在することから、今後、高齢者施設等における耐性菌対策とその監視体制の構築も検討する必要性が生じつつある。

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

別添 4

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：愛知県等で分離された菌株の解析

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 群馬県内の 1 施設、および岐阜県内の 2 施設において採取された検体について、7 種類の耐性菌をスクリーニングし、分離株の菌種の同定、薬剤耐性の判定を行った。さらに、本研究全体で得られた薬剤耐性菌のうち、特にグラム陽性球菌を各分担研究者から収集し、*mecA* 等の薬剤耐性遺伝子の確認、および、細菌感染症に用いる主な抗菌薬の MIC の再測定など、詳しい解析を試みた。解析を担当した施設の在宅患者等からは PR(1)SP、VRE、MDRA、MDRP は分離されなかったが、MRSA の分離率は 4.8-9.5 %、ESBL の分離率は 29-57.1 %であった。今回得られたデータによれば、施設入所者、在宅患者等における MRSA 分離率は、外来患者や健康人の分離率より高い可能性があり、海外における調査報告との比較では、中間的な位置を占めていた。また、ESBL 産生株の分離率は、一部の施設において、国内の急性期疾患治療医療機関や市中の健康者における分離率や保菌率よりかなり高い可能性が示唆された。

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 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のみ
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
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
准教授 木村幸司、講師 和知野純一
博士課程 大学院生 北岡 一樹、横山 覚
修士課程 大学院生 金地 玲生、金山 堯人

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多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

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、介護型施設等の入所者(以下、在宅医療患者等)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等における多剤耐性菌の実態を明らかに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、平成27年度に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

(総被検者：356人、総検体数：804件)
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)、ペニシリン耐性肺炎球菌(PR(1)SP)、バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)、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、鼻腔粘液、糞便、尿、褥瘡拭い液、膿

3. 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。薬剤感受性は、MICを測定して判定した。さらに、血液寒天平板で溶血を示し、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株について、disk拡散法で試験を行い、発育阻止円の直径を参考にPR(1)SPであるか否かなどを判定した。尿、糞便および褥創滲出液については、MRSA、VRE、MDRP、MDRA、ESBL/KPC産生菌の各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。

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、質量分析や生化学的試験による菌種の同定、Disk拡散法による耐性の判定を行った。さらに詳細な解析としてPCR法による耐性遺伝子の検出、およびそれぞれの菌種による感染症の治療に用いられる主な抗菌薬のMICの測定を行った。

(倫理面への配慮)

非侵襲的方法による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、さらに、その後、検体提供者または代諾者への説明と同意を得て検体の採取等を実施した。

C. 研究結果と考察

施設Aにおける耐性菌の分離率は、MRSAが全検体の5.3%、在宅患者等の6.5%、ESBL産生株は全検体の17%、在宅患者等の29%であった。PR(1)SP、VRE、MDRP、MDRA、で

あった。PR(1)SP、VRE、MDRP、MDRA、CREは分離されなかった。

施設Bにおける耐性菌の分離率は、MRSAが全検体の1.9%、在宅患者等の4.8%、ESBL産生株が全検体の25%、在宅患者等の57%であった。PR(1)SP、VRE、MDRP、MDRA、CREは分離されなかった。

施設Cにおける耐性菌の分離率はMRSAが全検体の3.1%、在宅患者等の9.1%、ESBL産生株が全検体の13%、在宅患者等の29%であった。PR(1)SP、VRE、MDRP、MDRA、CREは分離されなかった。

分離されたMRSA、ESBL産生株に対して、それぞれの施設ごとで、年齢中央値、性別、抗菌薬投与歴、入院歴のロジスティック回帰分析（IBM SPSS Version 24）によるリスク分析を行ったが、有意差は認められなかった。

さらなる耐性菌の解析として、本研究全体で得られた耐性菌のうちグラム陽性球菌の解析を担当した。耐性菌としてはMRSAのみが検出されており、PCR法により全て*mecA*遺伝子陽性であった。またVCM、TEICには全株感性であり、VRSAと判定される株は存在しなかった。

現在、残りの施設から採取された検体からの各種耐性菌の分離と解析を継続している。また分担研究者の川村准教授、飯沼教授によって分離された耐性菌のうちグラム陽性球菌の詳細な解析も並行して施行している。

D. 考察

解析を担当した施設の被検者からはPR(1)SP、VRE、MDRP、MDRAは分離されなかったが、MRSAの分離率は、4.8-9.5%、ESBL産生株の分離率は29-57.1%であった。

MRSAについては、海外ではLong-term care facility入所者のMRSA分離率に関して多数報告があるが、施設により様々である。USAでは24%（1998）、6.3%（2003）、31%（2008）、香港では21.6%（2011）、ドイツでは4.8%（2016）、オランダでは0.3%（2009）などの報告がある。

また、外来患者のMRSAスクリーニングで2.2%（2013、ドイツ）という報告がある。健常人のMRSAスクリーニングでは小児ではあるが4.3%（2005、日本）という報告もある。

今回の調査解析で得られたデータによれば、在宅患者等におけるMRSA分離率は、国内における外来患者や健常人の分離率よりは高い可能性が示唆され、海外との比較では中間に位置していた。

（結論）

今回の検討では、在宅医療患者等からはPR(1)SP、VRE、MDRP、MDRAは幸いにも分離されなかったが、MRSAの分離率は4.8-9.5%、ESBL産生株の分離率は29-57.1%であり、施設により、かなりのばらつきが見られた。

E. 健康危険情報

今回の調査解析では、在宅患者等におけるMRSA分離率は、国内における外来患者や健常人の分離率より、やや高い可能性が示唆された。また、ESBL産生株の分離率は29-57.1%であり、急性期疾患医療施設や市中の健常者における分離率・保菌率よりかなり高いことが示唆された。

F. 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

G. 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

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）
平成 28 年度 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：石川県内の介護施設等入所者由来検体からの耐性菌株の分離と同定、遺伝子解析
（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

北陸地区における老人施設入所者における多剤耐性菌の分離状況の確認および耐性菌の分子疫学解析を行うことを目的とする。対象とした施設は石川県の介護療養型老人保健施設（K）および富山県の特別養護老人ホーム（Y）の2施設である。施設 K では 74 名から同意を取得でき、MRSA の分離率は 12.2%、ESBL 産生菌の分離率は 21.6%であった。施設 Y では 34 名から同意を取得でき、MRSA の分離率は 2.9%、ESBL 産生菌の分離率は 11.8%であった。VRE、MDRP、MDRA は分離されなかった。分離された ESBL 産生菌 21 株はすべて *Escherichia coli* であり、CTX-M 遺伝子別では、CTX-M-1 Group:10 株、CTX-M-2 Group:1 株、CTX-M-9 Group:10 株となった。また推定 ST131 の株が 17 株（81%）と大多数を占めた。薬剤耐性遺伝子、薬剤感受性検査やその他の耐性菌の検索について、さらに解析をすすめる予定である。

研究協力者

薄田大輔（金沢医科大学臨床感染症学 / 助教）
入谷 敦（金沢医科大学高齢医学 / 講師）
根井仁一（根井クリニック / 院長）
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）
村 竜輝（金沢医科大学病院中央臨床検査部 /
臨床検査技師）

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(都道府県ごとに見た介護の地域差[厚生労働省提出資料]資料4-3)。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

対象施設は、石川県および富山県の高齢者施設とし、それぞれの施設入所者のうち、本研究に同意した入所者を対象とする。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）から同意を取得できた者とする。目標患者数として合計 100 名前後を目指す。また、薬剤耐性菌陽性化と関連する背景因子として、年齢、性別、過去 3 ヶ月以内の入院歴、過去 3 ヶ月以内の抗菌薬投与歴、薬剤耐性菌検出歴について、調査を行う。

2) 調査対象とする多剤耐性菌

MRSA、VRE、PR(1)SP、MDRP、MDRA、ESBL 産生腸内細菌科細菌（ESBL 産生菌）、CRE

3) 調査対象とする検体

咽頭スワブ、便、尿

4) 検体採取

咽頭スワブは、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滅菌スピッツに採取する。

5) 薬剤耐性菌分離方法

以下のスクリーニング培地を使用して耐性菌の分離を行う：クロモアガースクリーン培地 (MRSA, VRE, MDRP, MDRA, mSuperCARBA)。咽頭スワブでは、MRSA、MDRP、MDRA のスクリーニング培地を使用する。尿及び便では、すべてのスクリーニング培地を用いる。便では更に増菌培養 (BGLB) も併用する。咽頭スワブからのペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP/PISP) の分離には血液寒天培地を用い、肺炎球菌が分離された場合に、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菌が発育した場合には、グラム陰性菌では質量分析装置 (VITEK MS) による菌種の同定検査を行う (石川県医師会検査センターで実施)。肺炎球菌はオプトヒンテスト等を利用し、MRSA はレシチナーゼ試験、マンニト分解反応で黄色ブドウ球菌であることを確認する。耐性菌と考えられた菌は保存し、解析を行う。解析内容としては、耐性遺伝子 (メタロ- β -ラクタマーゼ、ESBL 等) やその他病原遺伝子の検出、ゲノタイピング (PCR-based ORF Typing, MLST 他) 薬剤感受性検査を実施する。ESBL 産生菌疑い株については、分子疫学解析 POT キット「大腸菌」を利用し、ESBL 遺伝子 (CTX-M 遺伝子; CTX-M-1 グループ (G)、-M-2 G、-M-9 G) の検出とゲノタイピングを行う。なお薬剤感受性検査は、名古屋大学医学部グループ (グラム陽性菌は名古屋大学医学部分子病原細菌学、グラム陰性菌は同病態解析学) で実施することとする。

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、石川県の介護型老人保健施設 (K) および富山県の特別養護老人ホーム (Y) の協力を得ることができ、両施設の入所者を対象とした。施設 K の定員は 144 名である (検体採取に係る研究協力者：入谷敦)。また施設 Y は定員 100 名である (検体採取に係る研究協力者：根井仁一)。

それぞれの施設の施設管理者および看護師に本研究の趣旨と検体採取および輸送の方法について説明を行った。研究のための検体採取は、それぞれの施設の研究協力者が主体となってい、同施設の看護師がその補助をすることとした。

2) 同意の取得と検体採取および検査の実施

採取された検体は、入谷 (施設 K)、飯沼または薄田 (施設 Y) により金沢医科大学まで運搬され、研究協力者の河村、金谷、村により、微生物学的検査が行われた。分離された耐性菌の遺伝子解析については、飯沼、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した。

3) 施設 K の検体採取状況

74 名から同意を取得することができた (平均年齢 87 歳 : 72~104 歳、男 : 女 = 16 : 58)。検体数は、尿 70 検体、便 72 検体、咽頭スワブ 69 検体となった。

4) 施設 Y の検体採取状況

34 名から同意を取得することができた (平均年齢 89 歳 : 67~99 歳、男 : 女 = 7 : 27)。検体数は、尿 30 検体、便 28 検体、咽頭スワブ 1 検体となった。

5) 施設 K の耐性菌分離状況

MRSA は 9 名 (12.2%) から分離された。分離された検体は、尿 : 1 名、便 : 5 名、咽頭スワブ : 5 名、尿及び咽頭スワブ : 1 名、便及び咽頭スワブ : 1 名であった。9 名中入院歴あり 2 名、抗菌薬投与歴あり 2 名であった。

ESBL 産生菌は、すべて *Escherichia coli* (大腸菌) あり、16 名 (21.6%) から分離された。分離された検体は、尿 : 8 名、便 : 15 名、尿及び便 : 7 名であった。16 名中入院歴あり 4 名、抗菌薬投与歴あり 5 名であった。

ESBL 産生菌と MRSA がともに分離されたのは、2 名であり、うち 1 名は抗菌薬投与歴があった。

VRE、MDRP、MDRA は今回分離されなかった。

6) 施設 Y の耐性菌分離状況

MRSA は 1 名 (2.9%) から分離された。分離された検体は咽頭スワブであり、入院歴および抗菌薬等歴があった。

ESBL 産生菌は、すべて *E. coli* であり、4 名 (11.8%) から分離された。分離された検体は、尿：1 名、便：4 名、尿及び便：1 名であった。4 名中入院歴あり 2 名 (うち 1 名は老人保健施設)、抗菌薬投与歴はなかった。

ESBL 産生菌と MRSA がともに分離された例はなかった。VRE、MDRP、MDRA は今回検分分離されなかった。

7) 分離された ESBL 産生 *E. coli* の遺伝子解析

分子疫学解析 POT キット「大腸菌」を用いて、解析を行った。同一人の重複を除き、20 名より 21 株が分離された。POT 解析では、CTX-M 遺伝子は -M-1 G：10 株、-M-2 G：1 株、-M-9 G：10 株となった。またゲノム遺伝子系列である MLST と関連する POT1 の値は 48 (推定 ST131) が 17 株 (81%) と大多数を占め、0：2 株、8：1 株、16：1 株という結果となった。また、施設 K の 1 名から 2 種 (POT1/CTX-M が 49/-M-1 G と 0/-M-9 G) の ESBL 産生 *E. coli* が分離された。

8) その他の薬剤耐性菌

ESBL スクリーニング培地で分離され、CTX-M 遺伝子陰性の腸内細菌科細菌は、*E. coli* 2 株、*Klebsiella pneumoniae* 3 株、*K. oxytoca* 1 株、*Proteus* spp. 2 株となった。これらの株はすべて DDST 試験陰性となった。

CRE スクリーニング培地で分離された腸内細菌科細菌は、*E. coli* 2 株、*K. pneumoniae* 1 株、*Enterobacter* spp 4 株、*Citrobacter* spp 1 株、*Aeromonas* spp 5 株となった。これらはすべてメタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子 (IMP, VIM) 陰性であった。また、*E. coli* 1 株は ESBL 産生菌であり、*E. coli* 1 株と *K. pneumoniae* 1 株は DDST 陰性であった。またこれらの 3 株ともに HODGE 試験陰性であった。

肺炎球菌は 7 株分離 (すべて咽頭スワブから分離) されたが、感受性検査を実施し、耐性菌の判定を行う予定である。

9) 薬剤感受性検査

現在、名古屋大学グループで実施中である。その結果に基づいて、その他の耐性因子の検討を追加する予定である。

D. 考察

今年度、石川県 (K) と富山県 (Y) の 2 施設を対象に研究を行った。K 施設では 74 名から、Y 施設では 34 名から同意取得でき、合計で目標の 100 名に到達した。ESBL 産生大腸菌は 20 名から 21 株分離され、それぞれ、21.6% (K)、11.8% (Y) の分離率であった。

高齢者施設における薬剤耐性菌の分離については、近畿地区の 1 施設 (介護老人保健施設) での検討では、尿路感染症の原因菌となった *E. coli* 24 株中 14 株が ESBL 産生菌であった。また便中の保菌検査では 21.5% で ESBL 産生 *E. coli* が陽性であったと報告されている。CTX-M 遺伝子では CTX-M-1 G または CTX-M-4 (-M-2 G) が多かった (山本ら, 日医老誌, 2011)。別の、近畿地区の 3 施設の検討では、便中の ESBL 産生菌の分離率は 21.7% であり、*E. coli* が 93.2% と大多数を占める結果であった。また CTX-M 遺伝子別では、-M-9 G (68.2%)、-M-1 G (29.5%)、-M-2 G (2.3%) となった (Luvsansharav, et al., Infect Drug Resist, 2013)。また、岩手県盛岡二次医療圏の介護保険施設 3 施設の検討では、便中の ESBL 産生菌の分離率は 9.3% であり、*E. coli* が 93% と大多数を占める結果であった。また CTX-M 遺伝子別 (*E. coli* のみ) では、-M-1 G (63.4%)、-M-9 G (34.6%) となった。また 1 施設で分離された ESBL 産生 *E. coli* 13 株すべて CTX-M-13 (CTX-M-1 G) であり、施設内での拡散が疑われた (小野寺ら, 感染症誌, 2016)。

本年度の検討では、ESBL 産生菌の分離率は、過去の報告 (10~20%) とほぼ同等であり、老人施設における平均的な数値と考えられた。CTX-M 遺伝子別では、-M-1 G と -M-9 G が同数で大多数を占めていた。また推定 ST131 の流行クローンが 17 株 (81%) を占めていた。MRSA の分離率は K (12.2%)、Y (2.9%) と、ESBL 産生菌より低い結果となった。VRE および ESBL 産生菌以外のグラム陰性耐性菌 (MDRP、MDRA) は現時点で分離されていない。PRSP および CRE については、さらに解析中である。来年度以後、さらに菌株の薬剤感受性検査および遺伝子解析をすすめ、伝播様式の解析など分子疫学的検討を行う予定である。

E. 結 論

老人施設での多剤耐性菌保菌調査を行い、検体採取および耐性菌の分離、耐性菌の解析を開始した。来年度以後、更に解析をすすめ分子疫学的検討を行う予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

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：愛知県内および群馬県内の介護施設等入所者由来検体からの耐性菌株の分離と同一、遺伝子解析

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 28 年度の分担研究では、愛知県下 3 施設の検体採取協力施設から得られた尿 63 検体、糞便 52 検体、咽頭拭い液 82 検体の合計 197 検体の培養検査を行い、7 種類の耐性菌の分離を試みた。その結果、咽頭拭い液および尿検体からは MRSA 11 株を、咽頭拭い液、糞便および尿検体からは 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 25 株ならびに CRE を疑う腸内細菌科菌種 6 株を検出した。一方、VRE、PR(1)SP、MDRP、MDRA については、スクリーニング培地上に類似コロニーを得ることはあったが、精査の結果、これらの薬剤耐性菌について陽性となる検体は 1 検体もなかった。さらに今年度は研究代表者の研究室で分離された ESBL 産生菌も合わせて、分子生物学的解析を行なった。菌種と遺伝子型の内訳は、ESBL 産生大腸菌では CTX-M group-1 産生株が 8 株、group-9 産生株が 42 株、ESBL 産生肺炎桿菌では CTX-M group-1 が 3 株、group-9 が 2 株、ESBL 産生プロテウス group-2 産生株が 1 株であった。これらの遺伝子型の分布は、急性期疾患治療機関の臨床分離株の分布とほぼ同等であった。さらに ESBL 産生大腸菌 50 株について O 血清型別や系統発生群、multilocus sequence typing (MLST) について解析を進めたところ、世界的流行型（international clone）である O25-B2-ST131 が 31 株存在し、それらの産生する CTX-M 型の内訳は、CTX-M-3 が 3 株、CTX-M-15 が 4 株、CTX-M-55 が 1 株、CTX-M-24 が 3 株、CTX-M-27 が 20 株であった。これらの結果から、在宅患者においても、一定の割合で世界的流行株である CTX-M-15 産生大腸菌 O25-B2-ST131 を保菌していること、また よりセフトラジジムに耐性傾向が強い進化した CTX-M-15、-55、-27 が多数を占めることが明らかとなった。これら ESBL 産生大腸菌はカルバペネム系抗菌薬およびフォスホマイシンに感受性を維持するものの、その 9 割以上がフルオロキノロンに耐性であったことから、施設入所者、在宅患者等における感染症治療時の抗菌薬選択にはこの結果に留意して実施することが今後必要となると考えられる。

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

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、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が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、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. 耐性菌検出方法および同定検査

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、37 で一夜培養後、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 であるか否かを判定した。尿、糞便および褥創滲出液については、MRSA、VRE、MDRP、MDRA、ESBL/KPC 選択培地に検体を接種し、37 で一夜培養後、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。MRSA および VRE スクリーニング培地に発育したコロニーは、血液寒天培地に純培養後、菌種名を同定し、該当菌種の場合には、薬剤耐性遺伝子を PCR にて検出した。

MDRP、MDRA、ESBL/KPC スクリーニング培地に発育したコロニーは、セフトキシム(CTX)を 1 μ g/ml を含むマッコニー寒天培地にて再分離し、LB 寒天培地に純培養後、菌種名を同定した。ESBL 産生菌を対象とした検査では、大腸菌、肺炎桿菌およびプロテウスの 3 菌種と同定された場合にのみ、CLSI の推奨する double disk 法にて ESBL 産生性を確認した。その後、特異的プライマーを用いた PCR にて、CTX-M group 分けを行い、増幅産物のシーケンス解析にて遺伝子型を決定した。

MDRP、MDRA、CRE については、ESBL 産生菌と同様の再分離と純培養を行い、その後菌種名を同定した。薬剤感受性試験を行い、カルバペネム、アミカシン、シプロフロキサシンの 3 剤に耐性の緑膿菌を MDRP、アシネトバクター属菌を MDRA とし、カルバペネム耐性の腸内細菌科細菌を CRE とした。なお、CRE が疑われる株については SMA disk を用いてメタロ- β -ラクタマーゼ産生菌のスクリーニングも実施した。
(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 2017 年度に審査を受け、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、検体提供者またはその代諾者の同意を得て本研究を開始した。

C. 研究結果と考察

愛知県下協力施設である3施設(E, F, G施設)より収集した尿 63検体、糞便 52検体、咽頭拭い液 82検体の合計197検体について解析を実施した。

咽頭拭い液および尿検体からはMRSA 11株(5.6%)を、咽頭拭い液、糞便および尿検体からは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 25株(12.6%)ならびにCREを疑う腸内細菌科菌種 6株(3.0%)が検出された。

一方、VRE, PR(I)SP, MDRP, MDRAについては、スクリーニング培地上に類似コロニーを得ることはあったが、精査の結果、陽性検体は1検体もなかった。

施設別にみると、MRSAは、E施設の咽頭拭い液 14株中2株 (14.2%)、F施設は咽頭拭い液 42株中5株 (11.9%)と尿 37株中3株 (8.1%)、G施設は咽頭拭い液 26株中1株 (3.8%)の検出があり、MRSAの保菌には3.8-14.2%とかなりの施設間差が認められた。

ESBL産生大腸菌については、E施設は0株、F施設は尿 37株中4株(10.8%)、糞便 31株中4株 (12.9%)、G施設は咽頭拭い液 26株中4株 (15.3%)、尿 21株中4株 (19.0%)、糞便 20株中8株 (40.0%)と、予想通り尿と糞便からの検出率が高かった。また、MRSAよりも、より大きな施設間差が認められた。

MRSAやESBL産生菌の保菌者について、入院歴や三ヶ月以内の抗菌薬投与歴の有無を合わせて比較検討したところ、両者とも有意な関連性は認められなかった。

平成28年度は、研究代表者である荒川研究室に提出された2施設分の検体から検出されたESBL産生菌も合わせて、分子生物学的解析を行なった。菌種と遺伝子型の内訳は、ESBL産生大腸菌50株では *bla*_{CTX-M group-1} 保菌株が8株、*bla*_{CTX-M group-9} 保菌株が42株、ESBL産生肺炎桿菌5株では *bla*_{CTX-M group-1} 保菌株が3株、*bla*_{CTX-M group-9} 保菌株が2株、ESBL産生プロテウスでは *bla*_{CTX-M group-2} 保菌株が1株であった。これらの遺伝子型の分

布は、急性期疾患医療施設における臨床分離株の分離率とほぼ同等であった。

さらに、これらESBL産生大腸菌50株のO血清型別や系統発生群、multilocus sequence typing(MLST)について解析を進めたところ、世界的流行型である O25-B2-ST131が31株確認された。それらが産生するCTX-M型ESBLの内訳は、CTX-M group1に属するCTX-M-3が3株、CTX-M-15が4株、CTX-M-55が1株、group-9に属するCTX-M-24が3株、CTX-M-27が20株であった。これらの結果から、在宅患者においても、一定の割合で世界的流行株CTX-M-15産生 O25-B2-ST131を保菌していることが明らかとなった。CTX-M-15、-55、-27型産生株は、セフトラジムにも耐性傾向を示す進化型である。本調査で日々、抗菌薬に曝露されていない在宅患者においても、これら進化型が多数を占めることが明らかとなった。

薬剤感受性傾向については、ESBL産生菌はカルバペネム系抗菌薬および fosfomicin に感受性を維持するものの、その約9割がフルオロキノロンに耐性を示した。これらの結果から、在宅患者においても、感染症治療時の抗菌薬選択には注意を要することが示唆された。

なお、CREを疑う菌種については、現在SMA diskを用いてメタロ- β -ラクタマーゼ産生菌のスクリーニングを実施しているところである。

(結論)

介護施設や療養施設の入所者や在宅医療患者等が一定頻度薬剤耐性菌を保菌していることが明らかとなった。特に、ESBL産生菌の保有率は高く、在宅患者等が急性期病院に入院する際の薬剤耐性菌の持ち込みには十分注意が必要であることが示唆された。

D. 健康危険情報

介護施設や療養施設の入所者や在宅医療患者等においてESBLを産生する国際流行

クローン (*E. coli* O25b:H4-ST131) が広がっていることが確認され、今後の動向に注意する必要がある。

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：岐阜県内の在宅医療患者および特別養護老人ホームにおける
検体採取と菌株解析

研究分担者 村上啓雄

（岐阜大学医学部附属病院生体支援センター・感染制御学(生体支援センター研究室)）

研究要旨

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をするために、まず岐阜県内の在宅医療患者診療を行う 2 施設で 5 から 6 月にそれぞれ 21 名、11 名、合計 32 名の検体採取を行った。検出された薬剤耐性菌率はそれぞれ MRSA で 4.7%、9.0%、ESBL(糞便)で 52.3%、36.3% で、2015 年の岐阜大学医学部附属病院での検出率(MRSA：3.8%、ESBL 糞便：0.58%)に比し、非常に高かった。なお、両施設とも、PRSP、VRE、MDRP、MDRA、CRE は検出されなかった。一方、特別養護老人ホーム 1 施設での検体採取は、入所者 65 名から 11 月に検体採取を行い、現在菌株解析は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（微生物学研究室）において実施中である。以上の結果より、在宅医療患者の一部(MRSA および ESBL)の薬剤耐性菌高保菌率が示され、患者診療動線を踏まえた地域病診連携における感染対策のあり方について再考すべき現状にあると考えられた。

研究協力者（敬称略）

岐阜大学医学部附属病院 検査部・
生体支援センター 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
特別養護老人ホーム椿野苑施設長
井上祐子
医療法人 育寿会 理事長 兼
MIWA 内科胃腸科 CLINIC 院長
三輪佳行

(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多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、岐阜県内の在宅医療患者診療 2 施設および特別養護老人ホーム 1 施設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。

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

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」での研究承認に基づき、本分担研究においても岐阜大学大学院医学系研究科倫理審査委員会で審査と承認を得て研究を開始した。

2. 研究対象

調査対象者：まず在宅医療患者として、A 施設で診療を受けている患者のうち、本研究に文書で同意が得られた 21 名と同様に B 施設で診療を受けている 11 名を対象とした。また、特別養護老人ホーム入所者のうち、本人または家族の研究同意が文書で得られた 65 名を対象とした。なお、患者情報として年齢、性別、過去 3 か月以内の入院歴および抗菌薬使用歴を記録した。

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

2. 耐性菌検出方法

採取した検体を、名古屋大学臨床検査医学・病態解析講座に専用の容器で送付し、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、MDRP、MDRA、ESBL/KPC 産生菌の各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、菌種の同定、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)

非侵襲的方法による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、岐阜大学大学院医学系研究科倫理審査委員会で同様に承認(承認番号 27-401)を得て、各研究協力施設において、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

岐阜県内の在宅医療患者診療を行う 2 施設で 5 から 6 月にそれぞれ A 施設 21 名(60 ~ 100 歳、平均 80.7 歳、男女比 9 : 12)、B 施設 11 名(76 ~ 104 歳、平均 92.3 歳、男女比 5 : 6)、合計 32 名の検体採取を行った。A 施設で得られた検体数は、咽頭拭い液 21、尿 8、糞便 21、褥瘡拭い液 2 であった。検出された薬剤耐性菌は、MRSA : 1/21(4.7%、咽頭拭い液)、ESBL : 2/8(25.0%、尿)、11/21(52.3%、糞便)であった。ESBL は 13 株中 12 株が *E.coli* であった。B 施設で得られ

た検体数は、咽頭拭い液 11、尿 10、糞便 11 であった。

検出された薬剤耐性菌は、MRSA：1/11（9.0%、糞便）ESBL：4/11（36.3%、糞便、2 株が *E.coli*）であった。両施設とも、PRSP、VRE、MDRP、MDRA、CRE は検出されなかった。なお、参考データとして、2015 年の岐阜大学医学部附属病院検査部細菌検査室に提出された検体での薬剤耐性菌検出率は、呼吸器材料 MRSA：3.8%、糞便 MRSA：1.5%、糞便 ESBL：0.58%）であり、それに比し両施設の MRSA、ESBL の検出率は極めて高かった。なお、両施設とも検体採取患者の過去 3 か月の入院歴および抗菌薬使用歴はそれぞれの薬剤耐性菌検出率に影響を及ぼしていなかった。

また、A 施設において検出された ESBL（*E.coli*）12 株のうち、POT 法を用いた分子疫学解析では、2 株の POT 型が一致し、地域特有の菌株である可能性も考えられた。B 施設でも同様の分析を行ったが、POT 型が一致した菌株は得られなかった。

一方、特別養護老人ホーム 1 施設での検体採取は、入所者自身に研究同意を得られる可能性が乏しかったため、まず研究分担者から施設長に丁寧に研究計画を説明した後、施設職員全員に施設長から時間をかけて研究計画を説明した。さらに施設内に研究計画を掲示するとともに、入所者の家族に研究計画書を郵送し、同意書の返送のあった入所者 65 名から 11 月に検体採取を行った。咽頭拭い液 65、尿 26、糞便 45 の検体が得られた。65 名中 3 か月以内の抗菌薬投与歴は 13 名、入院歴のある入所者はなかった。現在菌株解析は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（微生物学研究室）において実施中である。

（結 論）

以上の結果より、在宅医療患者の一部（MRSA および ESBL）の薬剤耐性菌高保菌率が示され、患者診療動線を踏まえた地域病診連携における感染対策のあり方について再考すべき現状にあると考えられた。な

お、特別養護老人ホームで得られた菌株解析結果分析は来年度実施する予定である。

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：群馬県内の介護施設等入所者における検体採取
（介護施設等入所者からの検体採取等における方法と研究倫理についての
検討と整備）

研究分担者 藤本修平（東海大学医学部基礎医学系生体防御学 細菌学/感染症学）

研究要旨 平成 27 年 4 月より、従来の臨床研究指針と疫学研究指針に替わって「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」が施行されている。在宅等における耐性菌の分離状況、耐性菌に対する選択圧の把握は、医療、社会、環境全体における耐性菌の動向を知る上で重要であるが、通常、医学系研究の専門家が常駐ないし勤務しない在宅、介護施設における検体採取などにおいて倫理性、科学性、信頼性を保証して行くことは必ずしも容易ではない。本研究では、現行の指針と今回の調査の実績に照らし合わせて、在宅等における耐性菌の分離状況に関する調査を評価し、今後、同様の調査を進めて行く場合の現実的な方法を模索し、もう一方で、今後の倫理指針において考慮すべき点の提案を行う。さらに、検体採取の科学性、信頼性の保証のための方法について検討した。本年度の検討で、現在の指針に沿うと、1) 倫理審査はそれぞれの検体採取施設が受ける必要があるが、最初に研究責任者の施設で受審しておけば迅速審査の対象となる可能性が大きい、2) インフォームド・コンセントについては、鼻腔・咽頭の擦過、褥瘡分泌物の採取を軽微な侵襲とすれば簡略化が可能であるが、侵襲があるとする限り、オプトアウトを利用した承諾の対象とはならないことが明らかになった。侵襲がないのと同様という意見もあった。採取の方法、科学性、信頼性の保証について、乱数表を用いた無作為化を実施した。調査に協力した施設に対してアンケート調査をおこなった。検体採取等の方法についても改善すべき点があることが明らかになった。

A. 研究目的

今日の先進医療は、皮膚、粘膜などの物理的障壁の喪失、腸管機能、膀胱機能などの生理的障壁の障害、常在細菌叢の破壊など侵入門戸における生体防御能に損傷を与える、カテーテル挿入、手術的侵襲、抗菌薬投与や、全身的な免疫能の低下を来す行為を避けて通ることが出来ない。生体防御能の低下した個体は健康な個体に感染症を発症させることのない非病原菌（弱毒菌）によっても感染症（日和見感染症）を発症する。われわれの身近にある非病原菌とは、常在菌、環境菌であるために、日和見感染症はこれら常在菌、環境菌によって引き起こされる。常在菌、環境菌は、起因菌となることの多い強毒菌とともに、抗菌薬の使

用のたびに抗菌薬に曝露されるが、一方で、起因菌とならない限り、免疫による排除を受けないため、起因菌となることの多い強毒菌に較べて耐性菌が体内に残りやすい性質を持っている（起因菌になっている場合、少数の耐性菌が存在しても、感性菌が抗菌薬によって不活化されれば、残った少数の耐性菌は免疫によって排除される可能性があり、また排除されなかった場合も、起因菌であるので、排除されるか不幸な転帰をとるまで治療が行われ、その菌が体内に残る可能性は低い。）すなわち、今日の先進医療は、常在菌、環境菌における耐性菌の選択を避けて通れない。

このような中で、医療を安全に行うために、抗菌薬の適正使用による選択圧の抑制、

感染症を防ぎ、耐性菌の拡散を防止するための感染対策の徹底が必要とされているが、これらが有効に機能しているか、現在のリスクにどのようなものがあるかを科学的に評価するためには、動向調査（サーベイランス）が必要となる。これらの、抗菌薬適正使用、感染対策の徹底、サーベイランスの実施は、教育、研究、抗菌薬の販売に関する法的規制とともに、耐性菌対策の重要項目となっている。

動向調査は、医療施設においては、厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）などによって、一定レベルでの情報がほぼ即時データとして取得できるようになっている。さらに、研究として各種耐性、耐性遺伝子の検出・解析が行われており、現状をほぼ把握できるようになったが、一方で、在宅、介護施設などにおける耐性菌の動向は、ほとんど分かっていない。在宅、介護施設で暮らし、医療を受けている患者の多くは、高齢者、障害者であり、医療施設ともつながり、また、家庭あるいは施設内において、他の構成員とも密接につながっているため、耐性菌の拡散などの動的な動向に深く関わる可能性があり調査対象として重要である。しかし、施設、在宅医療の現場に、医学系研究の専門家が常駐することは無いため、医学系研究の専門家が存在する医療施設での調査とは異なった方法をとる必要がある。また、施設で暮らすあるいは家庭での療養が必要な高齢者、障害者の多くは、意思表示に何らかの障害を持っていることが多く、インフォームド・コンセントの取得にも工夫が必要になる。

本研究では、大学病院などの医療施設とは環境が大きく異なる、在宅等における耐性菌の動向調査について、研究倫理的な側面、及び、検体採取の方法について、分担研究者自身が、施設における検体採取を担い、実態を把握するとともに、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を適用する場合の方法、問題点を整理した。さらに、実際に検体採取を行った施設からアンケート調査による問題点の指摘を試みた。

B. 研究方法

1. 施設での検体採取

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」の協力施設となっている、社会福祉法人健生会特別養護老人ホーム 花の苑の嘱託医として検体採取を行った。

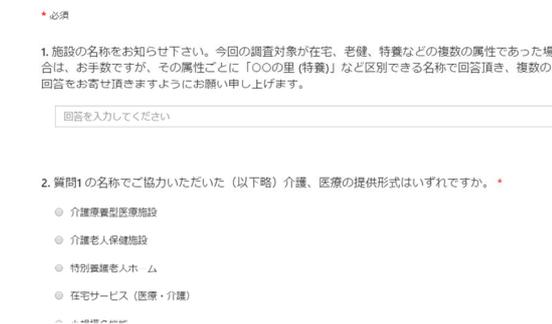
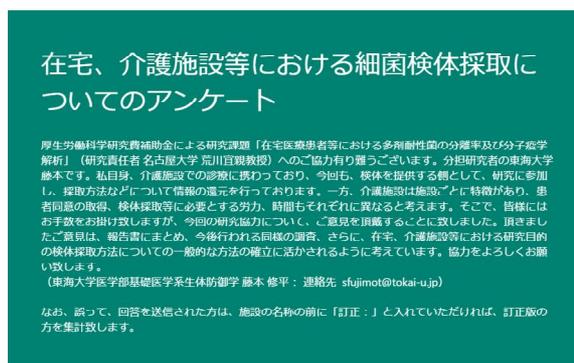


図1. Webを用いたアンケート調査の画面(一部)

1	患者数(施設の入所者数、在宅診療の総患者数など)をお知らせください(定員、年間平均など、おおよその数で結構です。今回の調査対象となり、匿名化ID帳にいられた方への数に相当する数をお知らせ下さい。)
2	採菌に検体採取を行った対象者数をお知らせください。
3	鼻粘膜拭き取物の採取数をお知らせ下さい。
4	咽頭拭き取物の採取数をお知らせ下さい。
5	褥瘡表面拭き取物の採取数をお知らせ下さい。
6	便の採取数をお知らせ下さい。
7	尿の採取数をお知らせ下さい。
8	その他の検体を採取されましたら、検体名と採取数をお知らせください。
9	調査協力で、もっとも手間がかかったことは何でしょうか。
10	倫理審査はどのような形で実施されましたでしょうか。
11	倫理審査についての検討、倫理審査には、労力がかかり大変だと感じましたか。
12	「説明書」にもつづいた説明、本人の署名が得られなかった場合、どのようにして同意を得ましたか。代読者、説明の方法などについてお知らせ下さい。
13	同意書ではなく、本人に対して、「説明書」にもつづいた説明を行い、本人が同意署名を行った例は全体の何パーセントくらいでしたか。大まかな数字で結構ですのでパーセントでお知らせください。
14	被検者の同意(代読者含む)を得るには、労力がかかり大変だと感じましたか
15	倫理審査の方法、対象者からの同意取得の方法についてご意見をお知らせ下さい。
16	匿名化ID表を用いた匿名化は、労力がかかり大変だと感じましたか。
17	検体採取についてお答え下さい。
18	鼻粘膜拭き取物の採取は、労力がかかり大変だと感じましたか。
19	鼻粘膜拭き取物の採取は、被検者の負担になると感じましたか。
20	咽頭拭き取物の採取は、労力がかかり大変だと感じましたか。
21	咽頭拭き取物の採取は、被検者の負担になると感じましたか。
22	褥瘡表面拭き取物の採取でご意見があればお知らせ下さい。
23	褥瘡表面拭き取物の採取は、労力がかかり大変だと感じましたか。
24	褥瘡表面拭き取物の採取は、被検者の負担になると感じましたか。
25	褥瘡表面拭き取物の採取でご意見があればお知らせください。
26	便の採取では、労力がかかり大変だと感じましたか。
27	便の採取は、被検者の負担になると感じましたか。
28	便の採取でご意見があればお知らせください。
29	尿の採取は、労力がかかり大変だと感じましたか。
30	尿の採取は、被検者の負担になると感じましたか。
31	尿の採取でご意見があればお知らせ下さい。
32	検体の送付(発送)は、労力がかかり大変だと感じましたか。
33	検体の送付(発送)でご意見があればお知らせ下さい。
34	研究者とのやりとりは、労力がかかり大変だと感じましたか。
35	研究者とのやりとりでご意見があればお知らせください。
36	情報還元についてお知らせください。
37	情報還元は必要だと思いますか。
38	耐性菌が検出された患者さんが特定できる情報(匿名化ID帳のID)を知りたいと思う。
39	耐性菌の検出率、検出率などについて、他の施設の情報(平均値など)も知りたいと思いませんか。
40	情報の還元についてご意見をお知らせ下さい。

表1. Webを用いたアンケート調査の内容

2. 「人を対象とする医学研究系研究に関する倫理指針」の在宅等調査への適用についての検討

倫理審査、インフォームド・コンセントの取得の方法について、現倫理指針に則った扱いを検討した。

3. 検体採取を行った施設からの意見聴取

Web アンケートシステムを利用して今回の調査の作業負担、被験者の負担（侵襲性）について意見聴取をおこなった（表 1、図 1）。

ID	被験者(候補)	ID	被験者(候補)
A0022		A0001	井口 正人
A0149		A0002	
A0095		A0003	高木 宏史
A0003		A0004	吉本 亨子
A0024		A0005	
A0145		A0006	
A0080		A0007	吉田 晶子
A0013		A0008	山口 仁
A0019		A0009	岩崎 亮太
A0082		A0010	
A0146		A0011	堀 教治
A0004		A0012	古屋 光広
A0060		A0013	小川 田
A0031		A0014	
A0104		A0015	河野 博文
A0120		A0016	
A0044		A0017	

図2. 乱数表(ID表)を用いた無作為化(例)

例: 150の乱数を発生させ、乱数の大きさから順位付けを行い、その順位をID(例ではA0001～A0150)としてID(例ではA0001～A0150)の順序を無作為化した(左表)。IDの順序を無作為化したID表に被験者リストを対応させた後、IDを照準に並び替え、被験者リストの表を無作為化した。ID表は施設ごとに異なる乱数表を用いて作成した。真正性の保証のため、施設に送付したID表は研究責任者が保管した。

C. 研究結果と考察

1. 施設での検体採取

90名を対象に乱数表を用いて66名より鼻腔(鼻前庭)擦過物30、咽頭ぬぐい液30、尿29、糞便36を採取した。

乱数表は平成27年度、研究協力者として提案したもので、実施中は、用語の堅苦しさを避けるために「ID表」と呼んだ(図2.)。

施設に配布されたID表(Excelの表)に、施設職員が開始時の全入所者のリストを流し込み、その後、乱数化されたIDを昇順に並べ替えることで、無作為化した入所者リストを作成した。この作業についての問題は特に指摘されなかった。

この後、ID表上位の入所者から順に検体採取を行った。特定の検体が採取できない(口を開けないので咽頭ぬぐい液が取れないなど)場合には、順次、順番を「繰り上げて」採取を行った。この段階の「繰り上げ」について、作業の繁雑さが指摘された。

鼻腔擦過物の採取は、鼻前庭擦過に限定したため、いずれの被験者でも特に侵襲を与えることなく実施可能であった。MRSAなどの検出には鼻前庭からの採取が適しており、本調査の目的から、鼻前庭のからの採取に限定して良いと考えた。

咽頭ぬぐい液の採取は、口を開けない被験者で採取できない例があった。動く被験者では、綿棒が後咽頭壁に触れることによって咽頭反射を誘発することがあった。後咽頭壁に触れなければ、咽頭反射の発生は抑制できるため、口蓋扁桃の擦過に限定すれば、侵襲無く検体を得ることが出来ると考えた。同時に動く被験者からの採取は避けることが良いと考えた。

尿、便の採取は、看護師に依頼した。尿意を訴えないおむつを用いている被験者に対しては、両大腿の間に通常の採尿カップ置き、排尿を待つ方法で採取可能であった。これらの採取に侵襲は伴わないと考えた。

調査時に褥瘡のある入所者が0名であったので、褥瘡からの検体採取は行わなかった。

今回の検体採取で、唯一、苦痛を与えた可能性が否定できなかったのは、運動を止めることが出来ない被験者からの咽頭ぬぐい液採取で咽頭後壁に触れた例であり、これは、このような被験者からの採取を避けることで防止でき、そのような被験者は様々な属性を持つことが考えられ、同程度の障害をもつ被験者で運動を止めることができるものもあることから、そのことが、調査結果に与える影響は無視できると考えた。

2. 「人を対象とする医学研究系研究に関する倫理指針」の在宅等調査への適用につい

ての検討

(イ)倫理審査

人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成26年12月22日文科科学省厚生労働省）（以下倫理指針）の用語の定義の中に、「(12)研究者等研究責任者：その他の研究の実施（試料・情報の収集・分譲を行う機関における業務の実施を含む。）に携わる関係者をいい、研究機関以外において既存試料・情報の提供のみを行う者及び委託を受けて研究に関する業務の一部に従事する者を除く。」とあり「研究の実施」には、「試料の収集」が含まれる見解を示している。同、「(9)研究機関」は、「研究を実施する法人、行政機関及び個人事業主をいい、試料・情報の保管、統計処理その他の研究に関する業務の一部についてのみ委託を受けて行う場合を除く。」としており、(12)の「研究の実施」についての見解を適用すると、「試料の収集」を行う「法人、行政機関及び個人事業主」も、「研究機関」と定義されてしまう。

このことから、「試料の収集」を行う、在宅医療を行う事業主、介護施設の事業主も「研究機関」に該当するため、倫理審査の対象となる。

耐性菌の分離状況の調査は、介入を伴わず、侵襲を伴うと判断しても、軽微な侵襲の範囲であるので、適切な申請を行えば、迅速審査の対象となる可能性が高いと考えた。擦過物の採取などの侵襲性について積極的にガイダンスに例示されることがこれを助けると考えた。

さらに、同「第6 研究機関の長の責務」において、「(5)研究機関の長は、研究に関する倫理並びに研究の実施に必要な知識及び技術に関する教育・研修を当該研究機関の研究者等が受けることを確保するための措置を講じなければならない。また、自らもこれらの教育・研修を受けなければならない。」とある。資料の収集は、担当医師が直接あるいは指示を与えて行うことになるので、事業主および担当医師が研修を受け

る必要がある。

この研修については、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針ガイダンス」（平成27年2月9日（平成27年3月31日一部改訂））（以下ガイダンス）「3 教育・研修」で、「教育・研修の形態としては、各々の研究機関内で開催される研修会や、他の機関（学会等を含む。）で開催される研修会の受講、e-learning（例えば、CITI Japan（文科科学省大学間連携共同教育推進事業）、臨床試験のための e-Training center（日本医師会治験促進センター）、ICR 臨床研究入門等。）などが考えられる。」とある。

ICR 臨床研究入門は誰でも受講可能で受講証明書の発行も行われる。実際の講習を受けたところ、内容がそぐわないものも多い一方で、基本的な考えをしっかりと学ぶには適当な教材であることが分かった。適当な項目の受講を義務づけることには、積極的な意義があると考えた。今後、在宅、介護施設での調査に適した学習項目を選定し、一定の基準として、厚生労働省などから示すことが適当と考えた。

倫理審査時の留意事項として後段で触れるインフォームド・アセントの取得方法を明確に述べておくことが必要である。

(ロ)インフォームド・コンセントの取得の方法

在宅や介護施設で医療を必要としている患者の多くは、意識障害、認知症などを持っており、インフォームド・コンセントを与えることが困難である（後段の意見聴取で回答のあった4施設では、自らインフォームド・コンセントを与えることが出来た例が被検者に占める割合は、0%2施設、回答無し1施設、10%1施設であった）。

一方、認知症患者は、徘徊、ケアなどで、他の利用者、職員との接触が多く、さらに嚥下障害、膀胱機能障害などのために感染症を発症しやすいことが予測できる。さらに、周辺症状のために、受診、入院困難となる事例も多く、医療に対して、認知症等

の無い患者とは異なった特性を持つ。

このため、ガイドンスの「5(1)ア」の「当該者を研究対象者とする必要がある理由」に関して、自らインフォームド・コンセントを与えることができる研究対象者から取得することが十分可能な試料・情報を、インフォームド・コンセントを与える能力を欠く者から取得することは適当でない。代諾者からインフォームド・コンセントを受けて実施する妥当性が認められ得るのは、基本的に、その研究対象者とする集団（例えば、乳幼児、知的障害者、施設入所者など）に主として見られる特有の事象に係る研究に限られることに留意する必要がある。」に照らしても、インフォームド・コンセント取得するが出来ない対象からの試料の提供を避けられない事例にあたる。

この場合、代諾者からインフォームド・コンセントを受けるが、倫理指針第13にしたがって研究計画書に記載がされることが必要である。さらに、同じく、インフォームド・アセントを受ける努力をすることが必要であるが、認知症の進んだ対象者の場合、不安を与えないことに主眼を置くことが適当な場合が多いと考えた。

代諾者の選定については、ガイドンスに「2(1)ア」の「代諾者等の選定方針」については、一般的には、次の から に掲げる者の中から、代諾者等を選定することを基本とする。（研究対象者が未成年者である場合）親権者又は未成年後見人 研究対象者の配偶者、父母、兄弟姉妹、子・孫、祖父母、同居の親族又はそれら近親者に準ずると考えられる者（未成年者を除く。）研究対象者の代理人（代理権を付与された任意後見人を含む。）ただし、画一的に選定するのではなく、個々の研究対象者における状況、例えば、研究対象者とのパートナー関係や信頼関係等の精神的な共同関係のほか、場合によっては研究対象者に対する虐待の可能性等も考慮した上で、研究対象者の意思及び利益を代弁できると考えられる者が選定されることが望ましい。また、代諾者等からインフォームド・コンセント

を受けたときは、当該代諾者と研究対象者との関係を示す記録を残すことも重要である。」とある。介護施設などにおいては子などの親族が必ずしも利益の代弁者とならないことがあるが、ガイドンスでは、親族や成年後見人制度に触れており、第三者を法的な根拠無く代諾者とするのが困難である印象を与えている。今後の検討が必要である。

一方、耐性菌の分離状況に係る調査では介入は行わない。侵襲も倫理指針、ガイドンスと照らしても軽微な侵襲あるいはそれ以下の程度であるので手続の簡略化について考慮すべきであると考えた。

これまでの、班会議などの議論で、「咽頭粘膜擦過物の採取、鼻粘膜擦過物の採取、褥瘡表面擦過物の採取を、体表に付着した分泌物の採取であって、侵襲にあたらぬ。」とする意見もあった。採取の方法を詳細に限定して、この考えを適用できる可能性もある。

侵襲にあたらぬ場合は、オプトアウトを用いたインフォームド・コンセント取得の簡略化も可能性としてあり、この点について、他の点と合わせて、さらに議論し、最終的に厚生労働省、文部科学省の担当者に、問いあわせ、提言する方針とした（議論を尽くした後、次年度に提言の予定）。

3. 検体採取を行った施設からの意見聴取

Web アンケートシステムを利用したアンケートを行った。4施設からの回答を得た。

回答した4施設のうち3施設は特別養護老人ホームで、1施設が介護老人保健施設であった。

入所者数は、80～141名で、平均で103名であった。実際の検体採取は、34～90名から行われており、平均で66名から行われていた。

鼻粘膜擦過物の採取は、2施設でのみ行われており、それぞれ30、66名から採取が行われていた。鼻粘膜擦過物の採取を鼻前庭から行うことが徹底していなかったこと

が示唆される。

咽頭粘膜擦過物の採取は、回答のあった4施設全部で行われていたが、一施設は2名にとどまり、残りの3施設はそれぞれ、30、65、68名から行われていた。平均で41名程度である。

褥瘡からの検体採取はいずれの施設でも行われていなかった。施設において褥瘡対策が進んでいることを反映していると考えた。

便の採取はいずれの施設からも得られており、28名～72名より採取されており、平均で45名程度から採取されていた。

尿の採取もいずれの施設からも得られており、26名～69名より採取されており、平均で39名程度から採取されていた。

調査協力で最も手間の掛かった点として3施設が対象者からの同意取得をあげている。1施設は検体の振り分けをあげていた。

倫理審査についての回答は3施設から有り、そのうち1施設が自施設で倫理審査を実施していた。また2施設は倫理審査の検討、倫理審査に労力が掛かったという評価をした。

本人によるインフォームド・コンセントが得られた割合は、回答のあった3施設では、それぞれ、0%、0%、10%であった。

インフォームド・コンセントの取得については、2施設が労力が掛かったという評価をし、2施設が掛からなかった、どちらかというとは掛からなかったという評価をした。

理解が出来る人だけを対象としたという内容の回答もあった。やむを得ないが、無作為性が損なわれる可能性があると考えた。

ID表を用いた匿名化（無作為化）について、労力が掛かり大変だという意見はなかった。

検体採取の労力については、咽頭粘膜擦過物、便、尿の採取に労力が掛かっていることを示唆する回答があった。採取法につ

いて検討が必要である。便については便秘の人が多く採取に手間が掛かると言う意見があった。採取時期がずれても良いことを徹底する必要があると考えた。

患者負担については、咽頭粘膜擦過物の採取で、「嫌な顔をされるのでかわいそうに思いました。」という意見があった。咽頭後壁に触れないなどの技術的な指導も必要と考えた。また、尿が出るまで仰臥位で待たせることも負担ではないかという意見もあった。採取時期がずれても良いことを徹底することである程度負担が減らせると考えた。

検体の送付、研究者とのやりとりも一定の負担となっていることを示唆する意見が複数あった。検体収集に検査所など事務的に作業が進められる事業者の利用も可能性としてあると考えた。

結果の還元については、結果が知りたいという施設はID表の匿名化したIDによる結果までを知りたいとしていたが、一方、情報還元は不要という施設もあった。他の施設との比較については、どちらかというとは無関心であるという回答であった。

結 論

在宅、介護施設での耐性菌の分離状況調査の倫理的側面及び方法について、実際の現場、指針等の調査検討、および実施施設からの意見聴取を行い、問題点の洗い出し、解決策の探索を行った。

感染症は、個体の状況、個体の周囲の環境、社会の状況によって様相を変える疾患で有り、耐性菌の分離率も健常人、医療施設入院中の軽症群、重症群、在宅・施設で医療を受けている群などで大きく異なることが予測でき、この検証のためには、それぞれの群において一定規模の調査が必要となる。

今回の検討で、現在の倫理指針を利用するとしても、環境ごとに適切に適用されるようにガイダンスの充実が必要であることが示唆された。

また、実際に検体採取を行った経験、検体採取を行った施設からの意見聴取で、採取法、検体の発送法などについて改善するとともに、精しい情報を共有することが必要であることが示唆された。

今後、これらを改善し、より大きな規模の調査が円滑に進むことを期待する。

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

別添 5

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 (平成 28 年度は無し)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年

IV. 研究成果の刊行物・別刷 (平成 28 年度は無し)

V. 参考文献、資料等 (査読なしを含む、本研究の成果物ではありません)