

厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)  
分担研究報告書

分担課題名

アジア各国からの薬剤耐性菌分離株の性状解析および在宅医療利用者の  
薬剤耐性菌サーベイランス

研究分担者 小松澤 均 広島大学医系科学研究科細菌学教室 教授

研究要旨

メルボルン大学 Doherty Institute (オーストラリア)、Clinical Research Malaysiaおよびマレーシア医学研究所 (マレーシア)、Airlangga大学 (インドネシア) との業務委託契約を完結し、メルボルン大学では耐性菌サーベイランスシステムの構築を、マレーシア医学研究所およびAirlangga大学とは耐性菌の採取に対する支援を行った。

在宅歯科医療利用者 (デイサービスケアを含む) 101名から第三世代セファロスポリン/カルバペネム耐性菌およびメチシリン耐性黄色ブドウ球菌を20名 (19.8%) 33株および 10名 (9.9%) 10株分離した。グラム陰性耐性菌の中でESBL産生株は17株であった。

A. 研究目的:

1) アジア各国のサーベイランスシステムの構築を支援するために、WHO/OIE/FAOが推進する三輪車サーベイランス (ESBL 大腸菌に関するヒト、動物、環境における調査) の実施を希望する国と協力し、サーベイランス体制構築のための技術支援を行うとともに、各国で得られたサーベイランスデータを効率的に集計してレポートを作成し、WHOの求める集計データを作成可能な環境を構築する。各国で分離した薬剤耐性菌株を収集・保存をし、ゲノム解析を行い、薬剤耐性菌の分離状況やゲノム情報等を各国の担当者と共有することで、サーベイランスシステムの構築・強化を図る。

2) 日本国内での薬剤耐性菌サーベイランスシステムである JANIS システムでカバーできない在宅歯科医療利用者や診療所入所者の薬剤耐性菌情報を明らかにすることで、国内の薬剤耐性菌情報をより詳細にすることで、AMR 対策の向上を図る。

B. 研究方法:

1) アジア 3 か国との共同研究に基づく耐性菌の分離

メルボルン大学 Doherty Institute (オーストラリア)、Clinical Research Malaysia およびマレーシア医学研究所 (マレーシア)、Airlangga 大学 (インドネシア) との共同研究を国立感染症研究所薬剤耐性研究センターと共に行うための、共同研究契約や資金の支援を行うことを計画した。

2) 在宅歯科医療利用者 (デイサービスケア含む)

からの耐性菌の分離

在宅医療を行っている 1 か所の有床診療所およびデイケアサービス提供の 3 施設に協力を得て、100 名の口腔検体を収集する。収集したサンプルを種々の薬剤耐性菌用の選択培地を播種し、主としてメチシリン耐性黄色ブドウ球菌、ESBL およびカルバペネム耐性グラム陰性菌を分離・同定を行った。黄色ブドウ球菌および MRSA の検出は、各特異プライマーを用いた PCR 法により判定を行った。また、サンプル中の全菌数に対する薬剤耐性菌の割合について定量性 PCR を用いて算出し、薬剤耐性菌の有無だけでなく、薬剤耐性菌の存在する量について検証を試みた。さらに、種々の患者臨床情報 (年齢、性別、身長、体重、BMI、基礎疾患の有無、残存歯数、口腔・義歯の清掃状態、OHAT、要支援・要介護度など) との関連性について検証する。また、薬剤耐性菌を培養し、種々の抗菌薬感受性試験を行い、耐性率を明らかにするとともに ESBL やカルバペネマーゼ遺伝子などの保有状況を PCR 法やメタゲノム解析法を用いて明らかにする。また、臨床情報と合わせ、在宅医療利用者や診療所入所者における保菌に関連する因子を解析する。

(倫理面への配慮)

本研究は広島大学疫学研究倫理審査委員会で承認済みである (E2022-0092)

C. 研究結果:

1) アジア 3 か国との共同研究に基づく耐性菌の分離

マレーシア医学研究所および Airlangga 大学では、

第3世代セファロスポリン耐性グラム陰性菌の分離を、ヒト、鶏、環境などから分離を行い、現在、結果を集計中であり、今後ゲノム解析を進める予定である。この研究活動のための資金の支援を行った。併せて、海外の菌株と比較するため、すでに日本で収集した株のゲノムも解読を行った。メルボルン大学での AMR サーベイランスの構築や AMR に関するネットワークの構築、会議の開催などの実施のための資金の支援を行った。

#### 2) 在宅歯科利用者(デイサービスケア含む)からの耐性菌の分離

4施設(内3施設はデイケア、1施設は往診)から計101検体を採取した。種々の選択培地を用いて検証した結果、101名から第三世代セファロスポリン/カルバペネム耐性菌を20名(19.8%)、33株分離した。33株について、ESBL 遺伝子の保有をPCRで検証した結果、*bla<sub>CTX-M1</sub>* 6株、*bla<sub>CTX-M2</sub>* 2株、*bla<sub>CTX-M9</sub>* 1株、*bla<sub>TEM</sub>* 6株、*bla<sub>SHV</sub>* 2株を認めた。TOF/MS解析による菌種同定法で、24株の菌種が同定された。*Acinetobacter* 属が13株、*Stenotrophomonas maltophilia* 8株、*Pseudomonas nitroreducens* 2株、*Achromobacter* 1株であった。黄色ブドウ球菌は101名から32名(31.7%)分離され、その中でメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は10名(9.9%)から分離された。

#### D. 考察:

在宅医療利用患者の耐性菌の分離率は、過去に国立感染症研究所の菅井らが中心に行った高齢者入所施設の入所者からの分離率はグラム陰性耐性菌においてはやや低い傾向を示したが、分離率は20%であり、一定の割合で耐性菌が口腔に存在していることが明らかになった。黄色ブドウ球菌の分離率は両者に違いはないが、MRSAの分離率は在宅患者の方が低い傾向を示した。

#### E. 結論

アジア3か国の大学と国立感染症研究所と共に共同研究契約を結んだ。今後、日本国の分離株との性状解析を行う。また、在宅医療利用者の口腔から、高齢者施設の入所者と同様に薬剤耐性菌が分離できることが明らかとなった。

#### 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