

平成24年度 群馬大学 文部科学省特別プロジェクト事業
「多剤薬剤耐性菌制御のための薬剤耐性菌研究者育成と細菌学的専門教育」

第1回 薬剤耐性菌制御のための 教育セミナー 資料集

日時：平成24年8月10日(金) 13時～16時
場所：国立感染症研究所 戸山庁舎 共用第一会議室
(東京都新宿区戸山1-23-1)

事務局：群馬大学大学院医学系研究科細菌学・同附属薬剤耐性菌実験施設

1 挨拶

群馬大学大学院医学系研究科 研究科長 和 泉 孝 志

2 本プロジェクト事業申請の背景と経緯

群馬大学大学院医学系研究科 客員教授 池 康 嘉

3 多剤耐性菌感染症への対応

国立感染症研究所 細菌第二部 部長 柴 山 恵 吾

4 グラム陽性菌の薬剤耐性

群馬大学附属薬剤耐性菌実験施設 准教授 谷 本 弘 一

5 グラム陰性菌の薬剤耐性

名古屋大学大学院医学系研究科 教授 荒 川 宜 親

6 院内感染症制御のための監視システム

東海大学医学部 生体防御学 教授 藤 本 修 平

7 耐性菌検査の現状と問題点

獨協医科大学病院 感染制御センター 奥 住 捷 子

目 次

ご 挨拶

和 泉 和 志

(群馬大学大学院医学系研究科長)

日本の薬剤耐性菌の現状	1
-------------------	---

柴 山 恵 吾

(国立感染症研究所 細菌第二部 部長)

バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE)	19
--------------------------	----

谷 本 弘 一¹、野 村 隆 浩²、富 田 治 芳^{1, 2}

(¹群馬大学大学院医学系研究科附属薬剤耐性菌実験施設、

²群馬大学大学院医学系研究科細菌学)

グラム陰性菌の薬剤耐性	29
-------------------	----

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)

院内感染症制御のための監視システム	42
-------------------------	----

藤 本 修 平

(東海大学医学部基礎医学系生体防御学 教授)

臨床検査としての薬剤感受性試験の現状と問題点

特にグラム陽性菌を中心にして	59
----------------------	----

奥 住 捷 子

(獨協医科大学病院・感染制御センター)

(特別寄稿 1)

寄生虫感染症と薬剤耐性 1. 蠕虫感染症と抗蠕虫薬	65
---------------------------------	----

久 枝

一 (群馬大学大学院医学系研究科国際寄生虫病学 教授)

(特別寄稿 2)

ヘルペスウイルスの薬剤耐性	69
---------------------	----

磯 村

寛 樹

(群馬大学大学院医学系研究科分子予防医学 教授)

ご 挨 拶

群馬大学大学院医学系研究科長 和 泉 孝 志

第1回薬剤耐性菌制御のための教育セミナーにお集まり頂き、誠にありがとうございます。本セミナーは、平成24年度より開始された文部科学省特別プロジェクト事業「多剤薬剤耐性菌制御のための薬剤耐性菌研究者育成と細菌学的専門教育」の取り組みの一つとして開催されるものです。この事業は群馬大学の概算要求事項のうち、プロジェクト区分「高度な専門職業人の養成や専門教育機能の充実」の1つとして申請していたもので、群馬大学大学院医学系研究科細菌学教室及び附属薬剤耐性菌実験施設を中心として、名古屋大学、東海大学、国立感染症研究所との密接な連携の上に進めていく計画です。各機関からこのプロジェクトにご参加頂けることを、大変感謝しております。

5年間のプロジェクトですが、毎年着実に成果をあげていくことが求められています。本事業が薬剤耐性菌制御に関する教育研究の発展と研究者育成に繋がることを期待しています。皆様のご理解とご協力をお願い致します。

日本の薬剤耐性菌の現状

国立感染症研究所 細菌第二部

部長 柴 山 恵 吾

■内容

1. はじめに	1
2. 黄色ブドウ球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA, MRSA)	1
3. 表皮ブドウ球菌 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	5
4. 腸球菌 <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	6
5. 肺炎球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	8
6. 化膿レンサ球菌 (A群レンサ球菌) <i>Streptococcus pyogenes</i>	9
7. アガラクチア菌 (B群レンサ球菌) <i>Streptococcus agalactiae</i>	10
8. グラム陽性菌における耐性菌分離頻度の動向	11
9. 大腸菌 <i>Escherichia coli</i> 、肺炎桿菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 、 セラチア菌 <i>Serratia marcescens</i>	12
10. 緑膿菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
11. アシネトバクター <i>Acinetobacter</i> spp.	17
12. JANIS 事業の概要	18

1. はじめに

抗菌薬の開発、使用に伴い、様々な薬剤耐性菌が次々と出現し、拡散している。菌種や薬剤によっては、医療現場全体で分離される株の耐性菌の割合が数年で大きく増加しているものも有る。細菌感染症に対する適切な抗菌薬を検討していくには、日本国内において各菌種でどの薬剤について耐性菌がどの程度になっているのかについて最新の情報を考慮する必要があるだろう。

厚生労働省院内感染対策サーベイランス (Japan Nosocomial Infection Surveillance) 事業 (以下 JANIS) では、全国の 200 床以上の医療機関およそ 1000 機関に協力頂き、国内の医療機関における院内感染症の発生状況、薬剤耐性菌の分離状況及び薬剤耐性菌による感染症の発生状況等を調査し、National data として解析結果を公開している。JANIS は、厚生労働省医政局指導課が実施している事業で、国立感染症研究所細菌第二部が実務を全て担当している。ここでは、JANIS の 2011 年の解析結果を中心に主要な各種耐性菌の国内での実態について紹介する。

2. 黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* (MSSA, MRSA)

黄色ブドウ球菌は MSSA ではペニシリン G (PCG) に対しては 61.1% が耐性だったが、セ

ファゾリン（CEZ）には 99.6%が感性だった。エリスロマイシン（EM）に対しては MSSA では 24.6%が非感性、レボフロキサシン（LVFX）には 10.4%が非感受性だった。一方 MRSA では、EM に対しては 92.2%が非感性、LVFX には 89.5%が非感受性だった。MRSA はミノサイクリン（MINO）に対しては 59.4%が非感性だった。バンコマイシン（VCM）に対しては 0.1%が中間だったが、耐性と判定された株はなかった。テイコプラニン（TEIC）に対しては、0.07%が非感性だった。リネゾリド（LZD）に対しては、0.1%が耐性だった。図 1 に、2007 年から 2011 年までの黄色ブドウ球菌に占める MRSA の割合の推移をしめす。近年、60%程度で推移している。

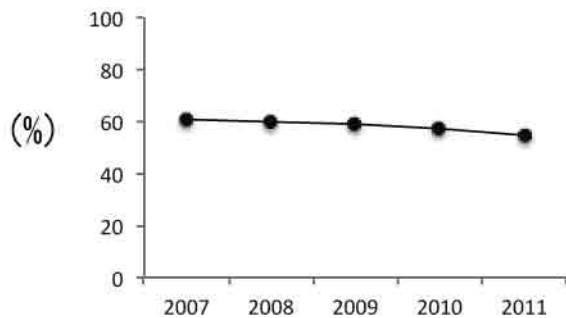


図 1 黄色ブドウ球菌に占める MRSA の割合

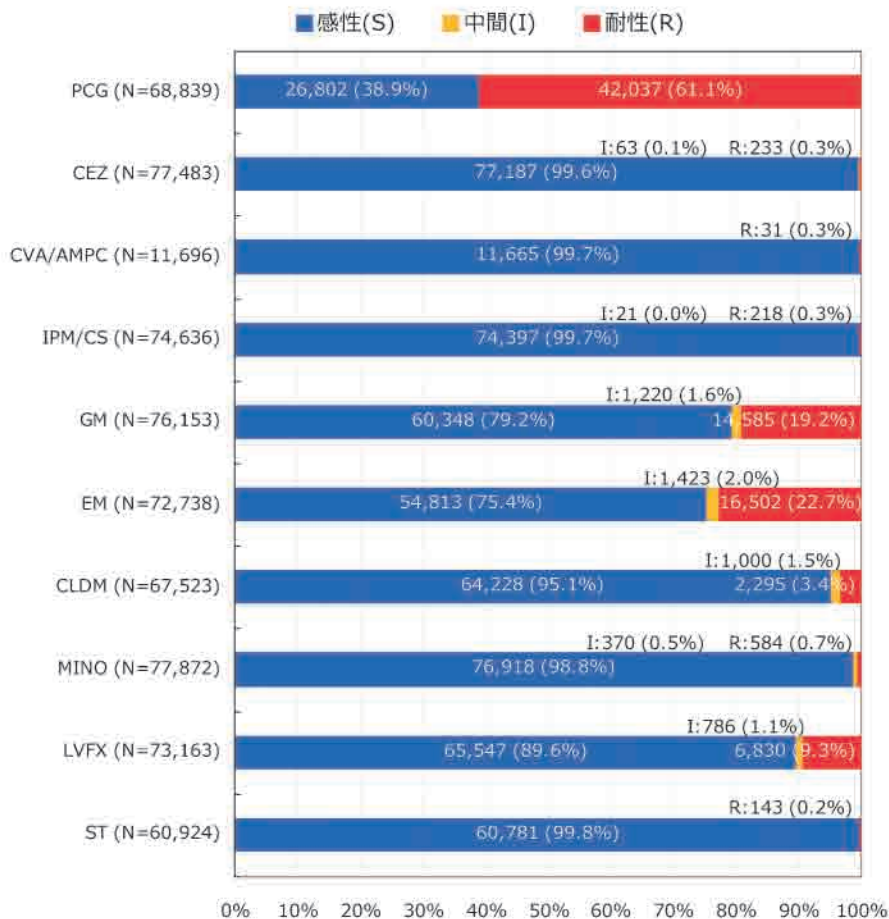
2011 年の入院患者で MRSA による感染症を発症した患者数は、総入院患者数 3,571,708 人中 17,162 人で、罹患率 4.81%だった。罹患率は医療機関によりばらつきが大きい傾向があったが、MRSA は全ての医療機関で分離されていた。

MSSA と MRSA に関する JANIS の公開情報を以下に示す。



7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Staphylococcus aureus (MSSA) †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除

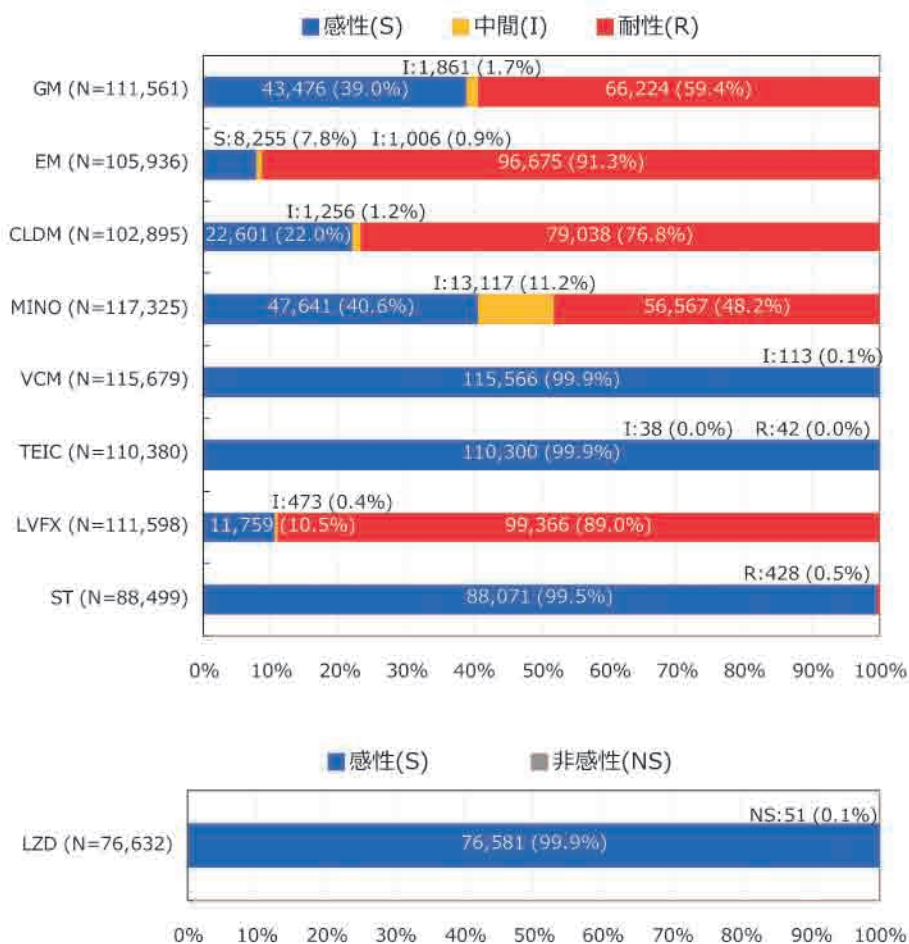
† 菌名コード: 1304, 1305, 1306と報告された菌および菌名コード: 1301と報告され抗菌薬コード: 1208 (オキサシリン)の感受性結果「S」の菌

公開情報 2011年1月～12月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門



7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Staphylococcus aureus (MRSA) †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計

抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

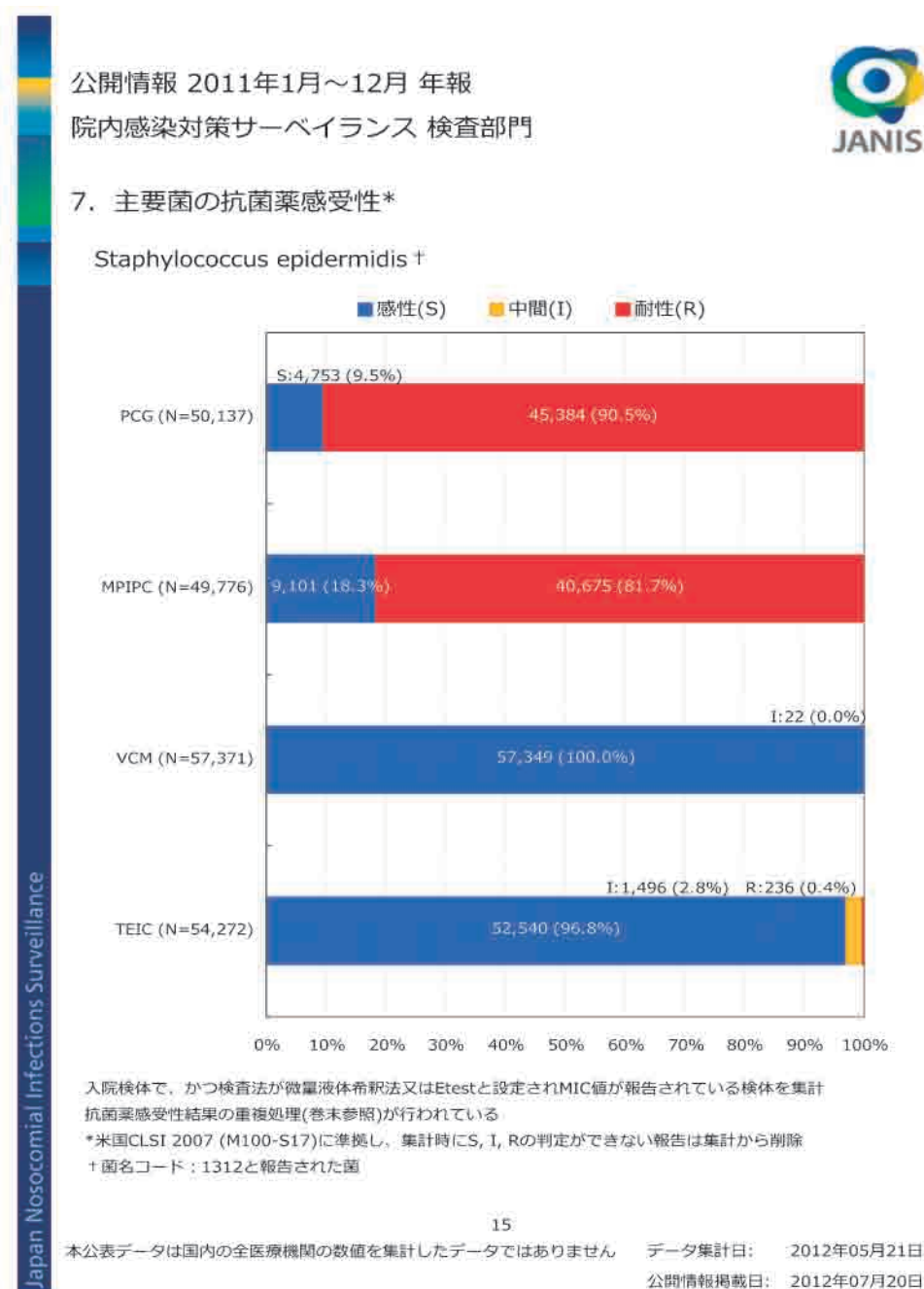
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, RまたはS, NSの判定ができない報告は集計から削除

† 菌名コード: 1303と報告された菌および菌名コード: 1301と報告され抗菌薬コード: 1208 (オキサシリン)の感受性結果「R」の菌

3. 表皮ブドウ球菌 *Staphylococcus epidermidis*

表皮ブドウ球菌は、81.7%がオキサシリン耐性だった。VCM に対する耐性菌はなかったが、TEIC に対しては 3.2%が非感性だった。

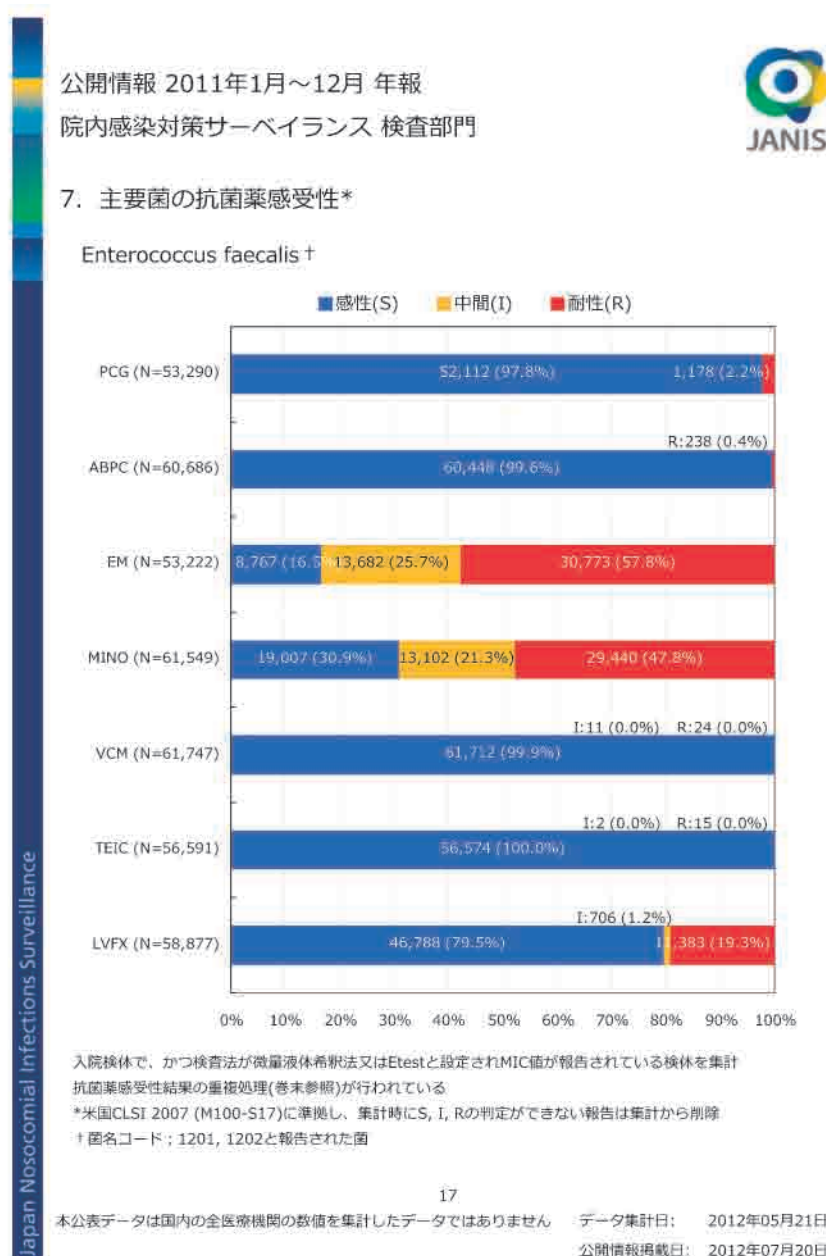
JANIS の公開情報を以下に示す。



4. 腸球菌 *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*

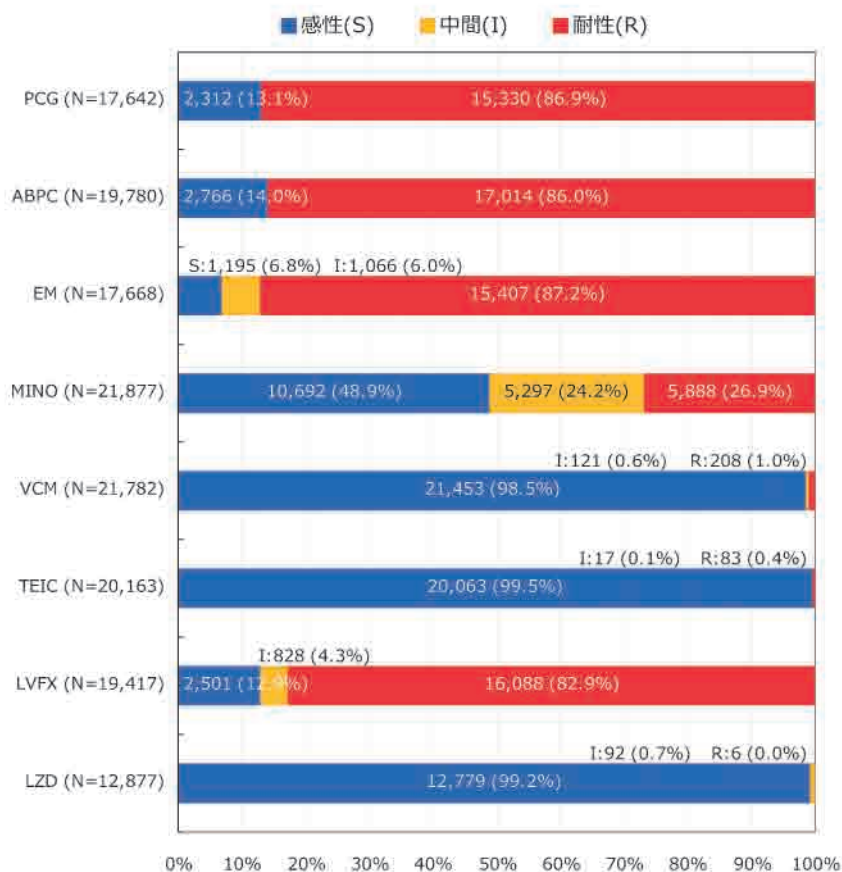
Enterococcus faecalis では、97.8%アンピシリン（ABPC）に感性だったが、*Enterococcus faecium* では対照的に86.9%が耐性だった。LVFXに関しても、*E. faecalis* では79.5%が感性だったのに対し、*E. faecium* では87.1%が非感性だった。*E. faecalis* はVCMに対する非感性株は1%未満だったが、*E. faecium* はVCMに対して非感性の菌が1.6%あった。うち、VREの判定基準を満たす耐性菌は、1.0%だった。*E. faecalis* と *E. faecium* 全体ではVREは1%未満である。米国ではVREは12.6%と報告されており（http://www.cddep.org/tools/vancomycin_resistant_enterococci_rates_united_states_and_other_countries）、比較すると日本はVREに関しては非常に少ない。EMに対しては、*E. faecalis* では83.5%、*E. faecium* では93.2%が非感性だった。*E. faecalis* と *E. faecium* に関する JANIS の公開情報を以下に示す。

2011年に入院患者でVREによる感染症を発症した患者数は、総入院患者数3,571,708人中11名で、罹患率0.01%だった。また、VREが一度でも分離された医療機関の割合は、2011年では11.1%だった。VREは、ある程度決まった医療機関から分離される傾向がある。



7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Enterococcus faecium †



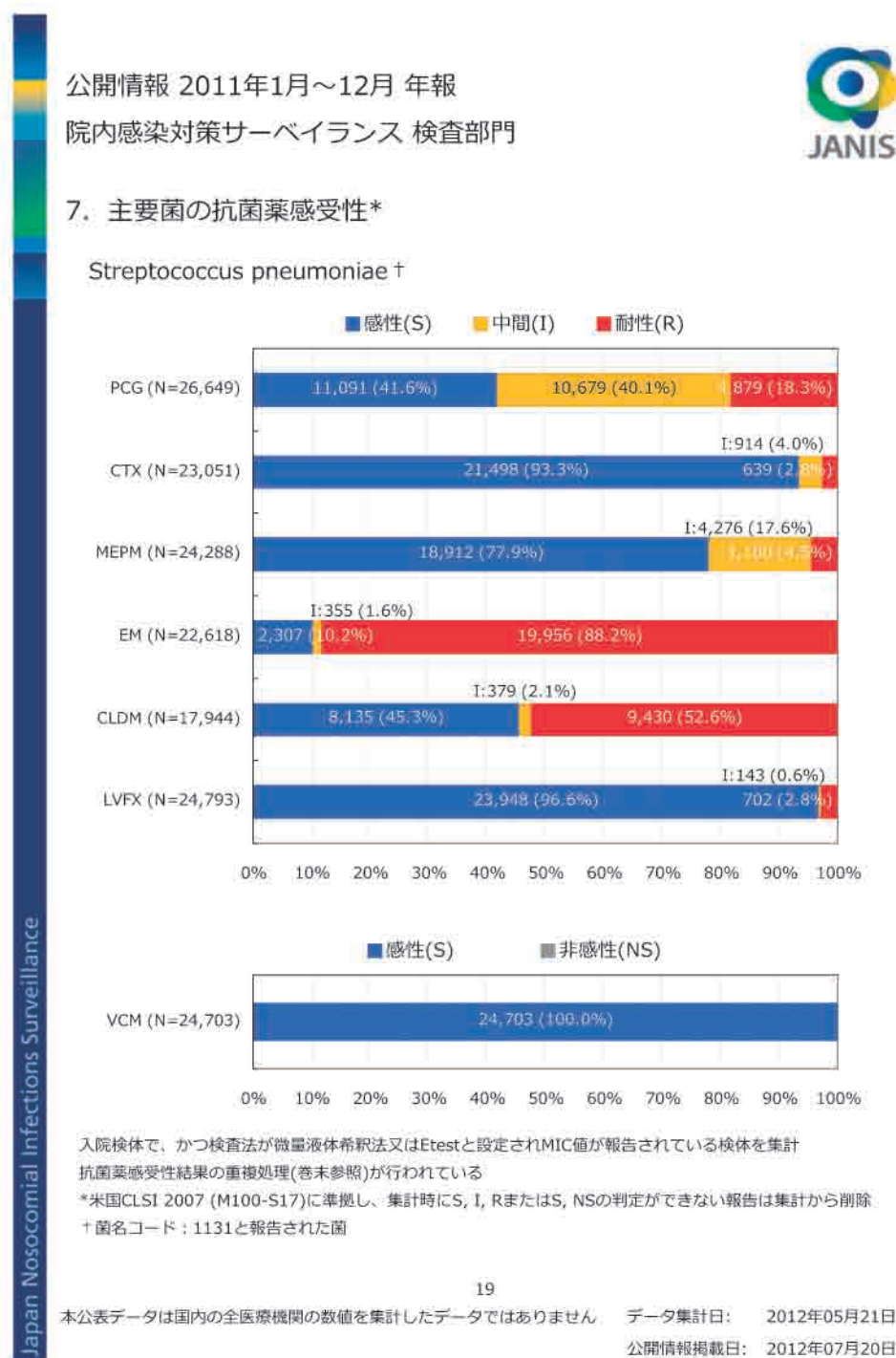
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除

† 菌名コード: 1205, 1206と報告された菌

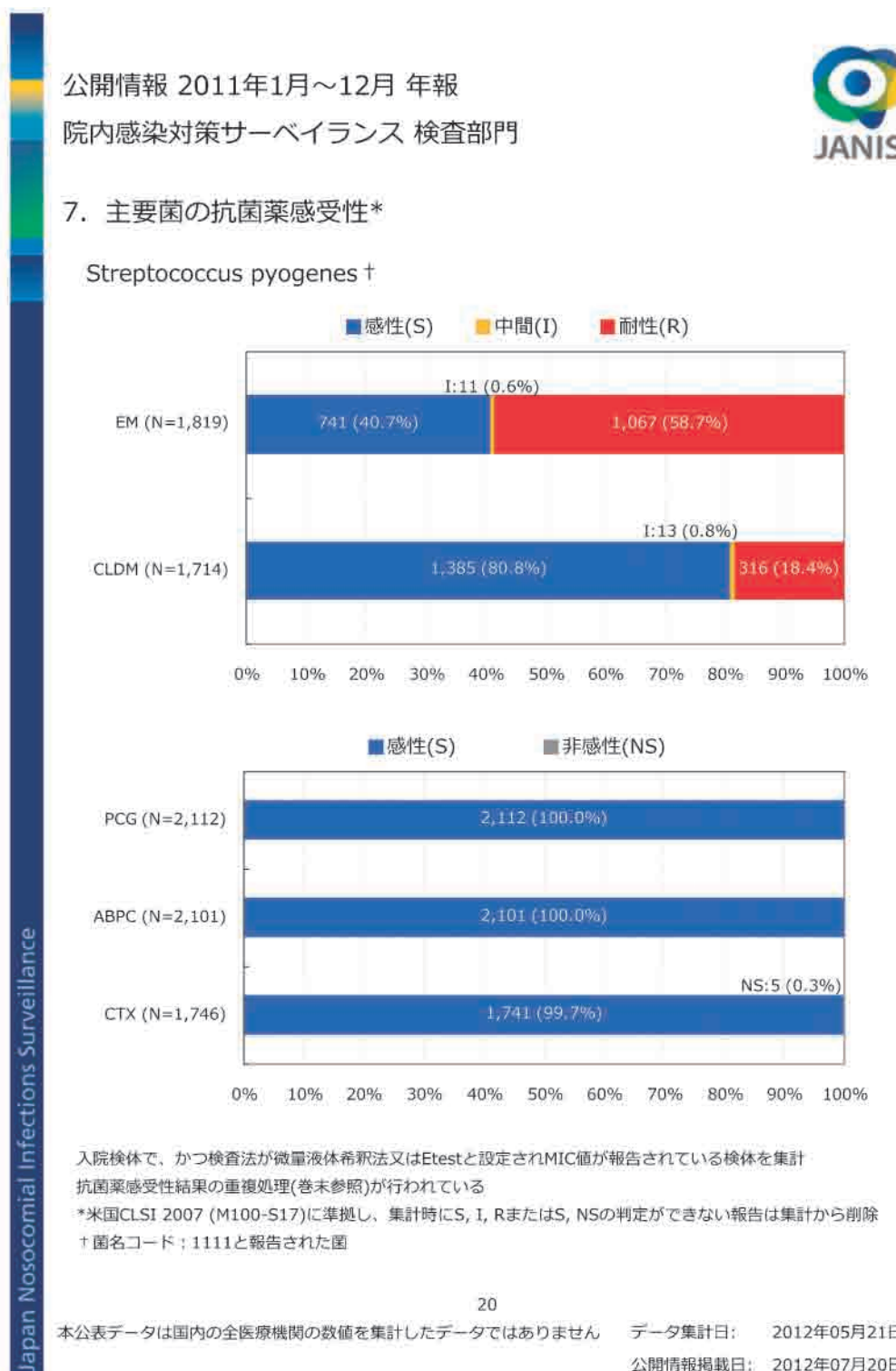
5. 肺炎球菌 *Streptococcus pneumoniae*

肺炎球菌では、PCG 非感性株が 58.4%で、これらは PRSP に相当する。また、セフトキシム（CTX）非感性、メロペネム（MEPM）非感性がそれぞれ 6.7%、22.1%が非感性だった。EM に対しては 89.8%が非感性だった。JANIS の公開情報を以下に示す。



6. 化膿レンサ球菌（A群レンサ球菌） *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes では、ペニシリン非感性株はなかった。EM については、59.3%が非感性だった。JANIS の公開情報を以下に示す。



7. アガラクチア菌（B群レンサ球菌） *Streptococcus agalactiae*

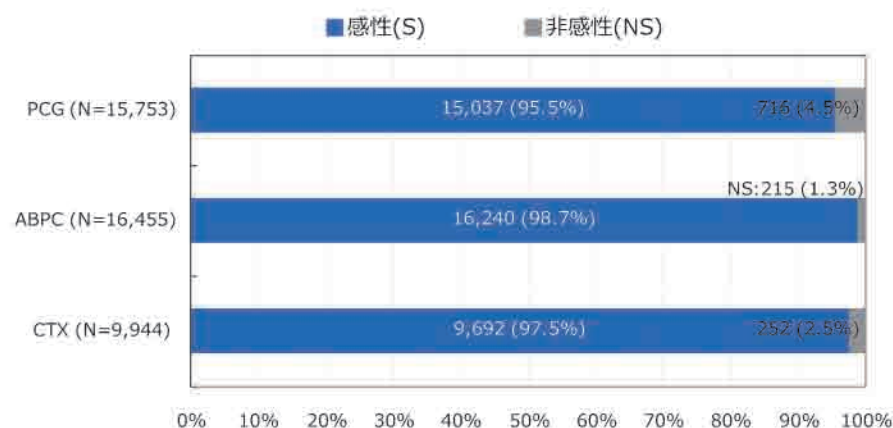
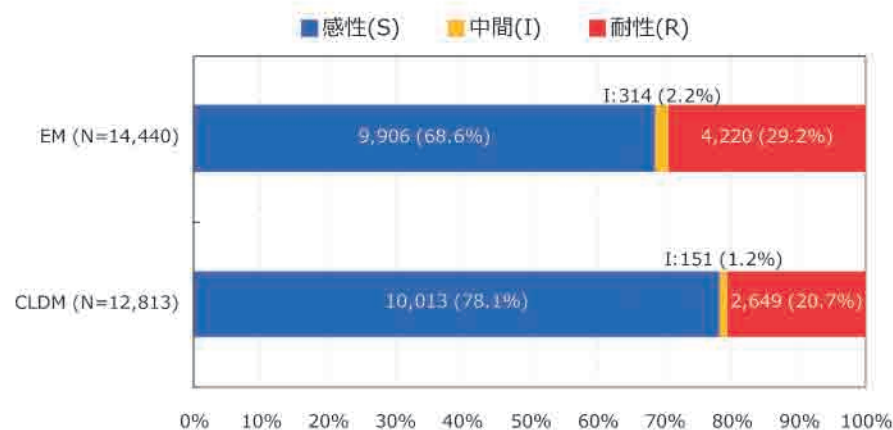
Streptococcus agalactiae については、PCG に対して 4.5%が非感性だった。EM は 31.4%が非感性だった。JANIS の公開情報を以下に示す。

公開情報 2011年1月～12月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門



7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Streptococcus agalactiae †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, RまたはS, NSの判定ができない報告は集計から削除

† 菌名コード：1114と報告された菌

8. グラム陽性菌における耐性菌分離頻度の動向

グラム陽性菌では、特に EM に対する耐性が目立った。*S. pyogenes* と *S. agalactiae* については、他菌種に比べて耐性菌の割合は少ないが、2007 年以降の JANIS 公開情報のデータをもとに年次推移を見ると、図 2 に示すように、いずれも増加傾向にある。MSSA の EM 耐性は、23-25% 程度で横ばいだった。

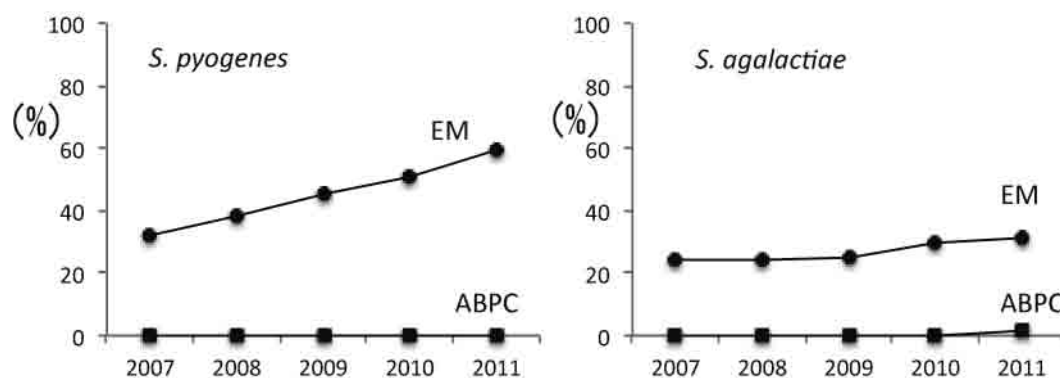


図2 *S. pyogenes* (左) と *S. agalactiae* (右) の EM、ABPC の耐性の割合の年次推移

EM 耐性の増加は、日本において、マクロライド系抗菌薬がよく使用されることと関連していると考えられる。今後、マクロライド系抗菌薬の効果はさらに限定的になる可能性が高い。

また、肺炎球菌中に占める PRSP の割合を図 3 に示す。近年 60% 程度で推移している。

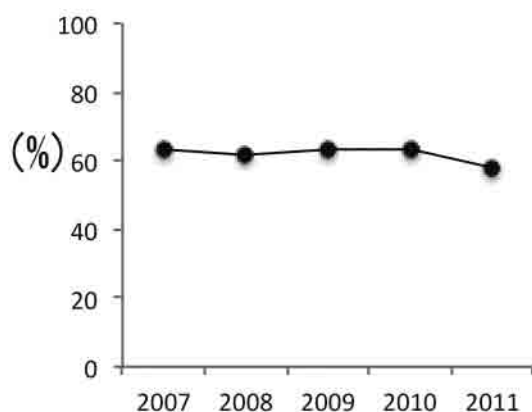


図3 *S. pneumoniae* に占める PRSP の割合の推移

9. 大腸菌 *Escherichia coli*、肺炎桿菌 *Klebsiella pneumoniae*、セラチア菌 *Serratia marcescens*

大腸菌では、CTX 及びセフトチジム（CEZ）に対する非感性菌の割合が、それぞれ 16.4%、8.7% だった。また、レボフロキサシン（LVFX）は 32.8% が非感性だった。これらの薬剤に対する耐性菌の割合を 2007 年以降の JANIS 公開情報のデータをもとに年次推移を見ると、いずれも近年増加傾向にある（図 4）。カルバペネム耐性菌については、NDM-1 産生菌など、近年様々な耐性遺伝子を持つ耐性菌が報告されているが、イミペネム（IPM）に対する耐性菌は割合としては現在のところ 0.11% 程度である。

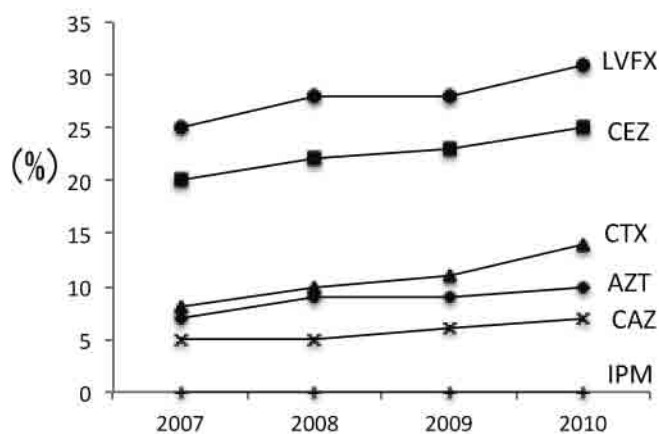


図 4 大腸菌における薬剤耐性菌の割合の年次推移

大腸菌において第 3 世代セファロスポリン耐性が増加している背景には、CTX-M タイプ、特に CTX-M-9 タイプの基質拡張型 β -ラクタマーゼ（ESBL）耐性遺伝子を持つ株が増加していることが明らかになっている（Suzuki et al., JAC, 2009, 63, 72-79）。

ところで、CTX-M タイプの ESBL 産生菌は、食肉からも分離例が多く報告されている。このため、食肉が人の医療現場における薬剤耐性菌の一つの供給源と

なっている可能性が示唆されており、研究が進められている。

Klebsiella pneumoniae、*Serratia marcescens* では、CTX 耐性がそれぞれ 6.4%、20.9% で、LVFX 耐性はそれぞれ 4.2%、8.7% だった。これらは、2007 年以降の年次推移を見るとほぼ横ばいだった。

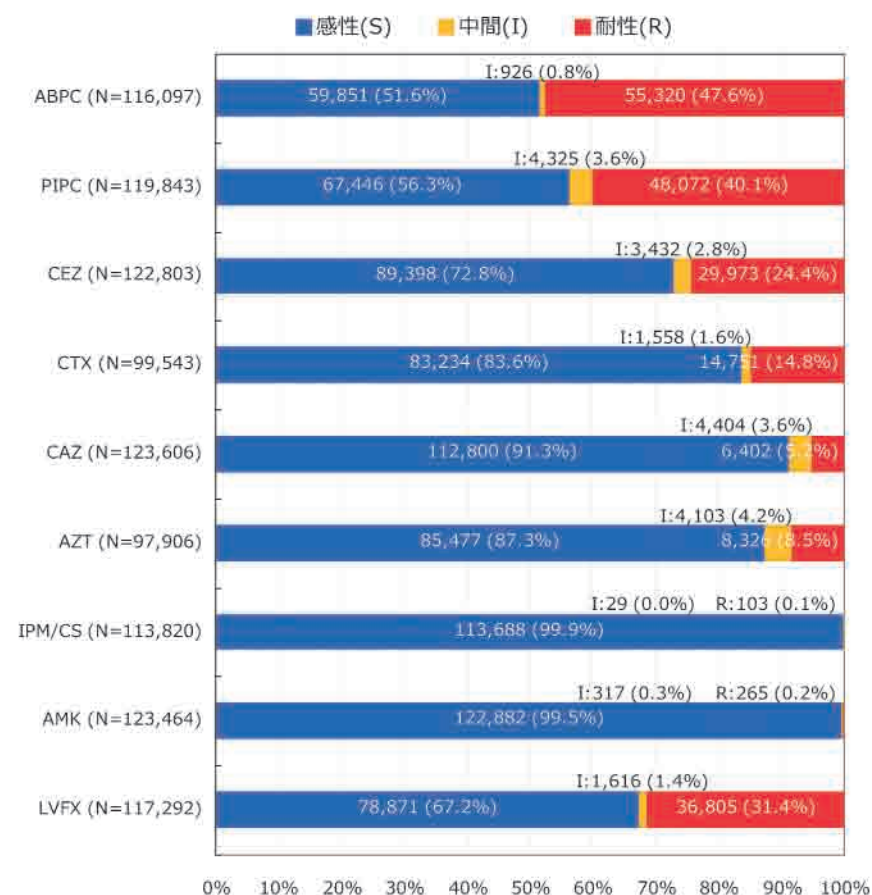
大腸菌、*K. pneumoniae*、*S. marcescens* の JANIS の公開情報を以下に示す。

公開情報 2011年1月～12月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門



7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Escherichia coli †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除

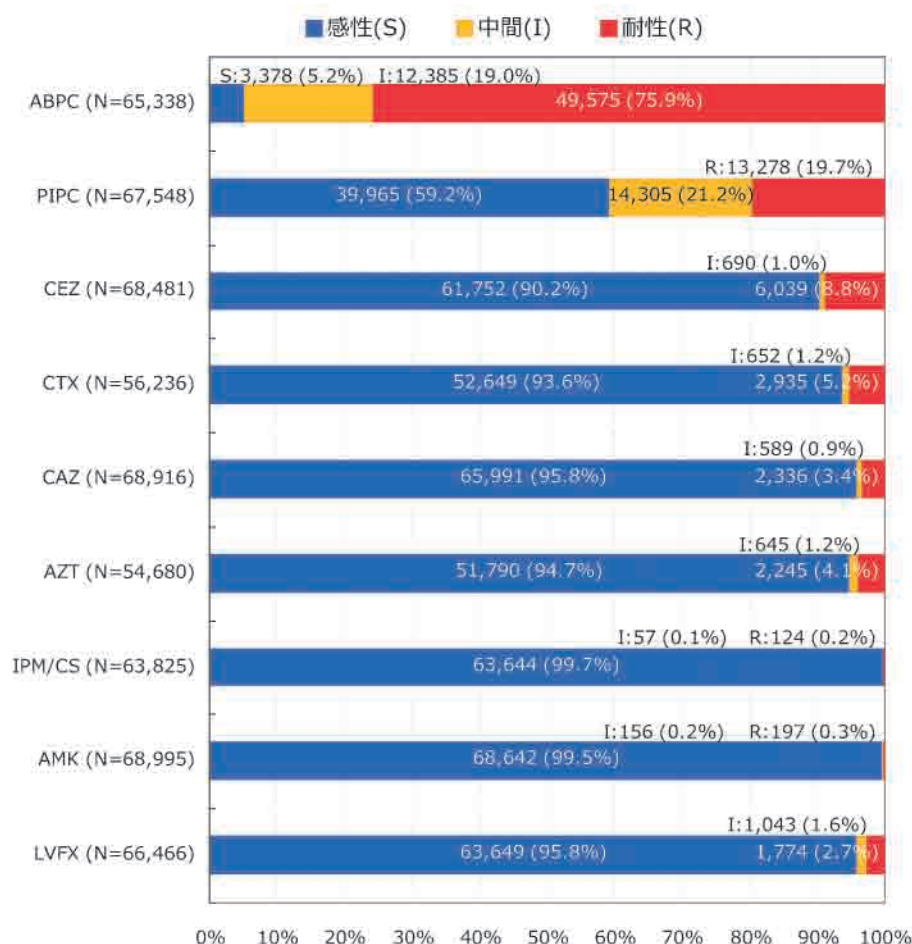
† 菌名コード：2001～2007と報告された菌

公開情報 2011年1月～12月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門



7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Klebsiella pneumoniae †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除

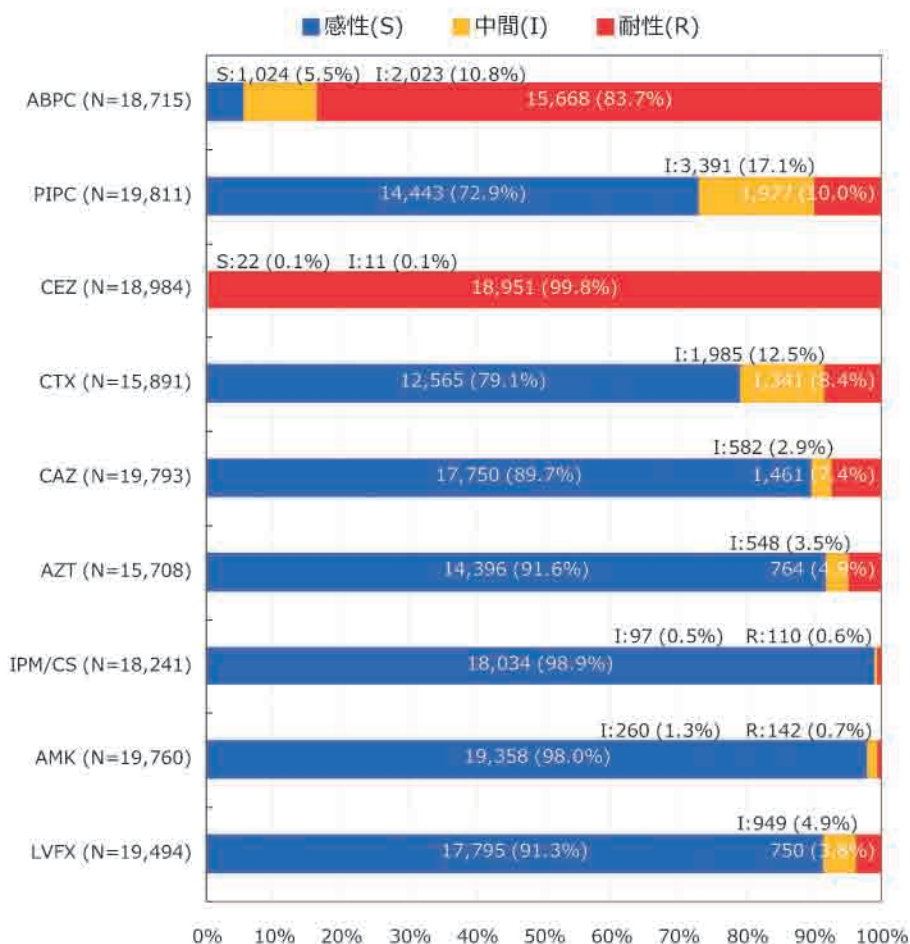
† 菌名コード: 2351と報告された菌

公開情報 2011年1月～12月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門



7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Serratia marcescens †



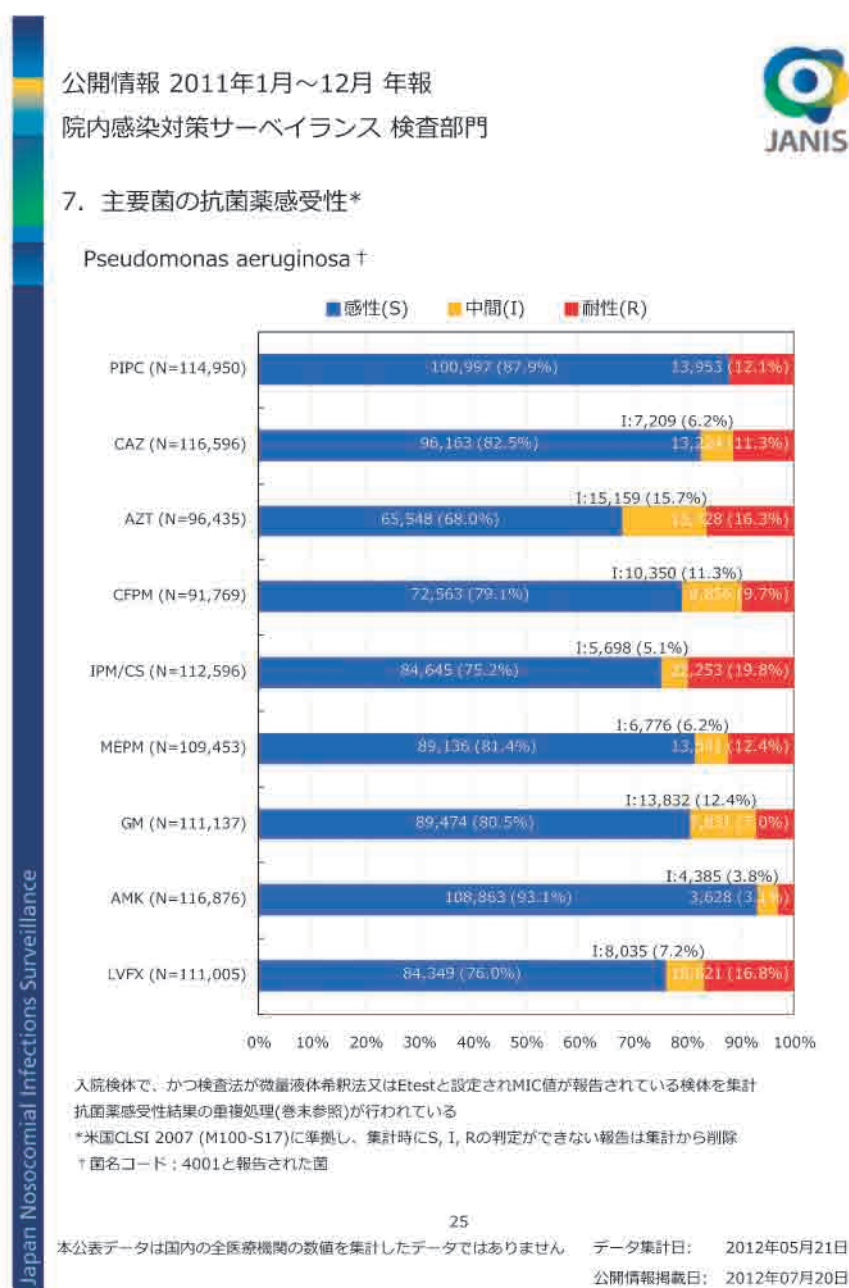
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除

† 菌名コード: 2101と報告された菌

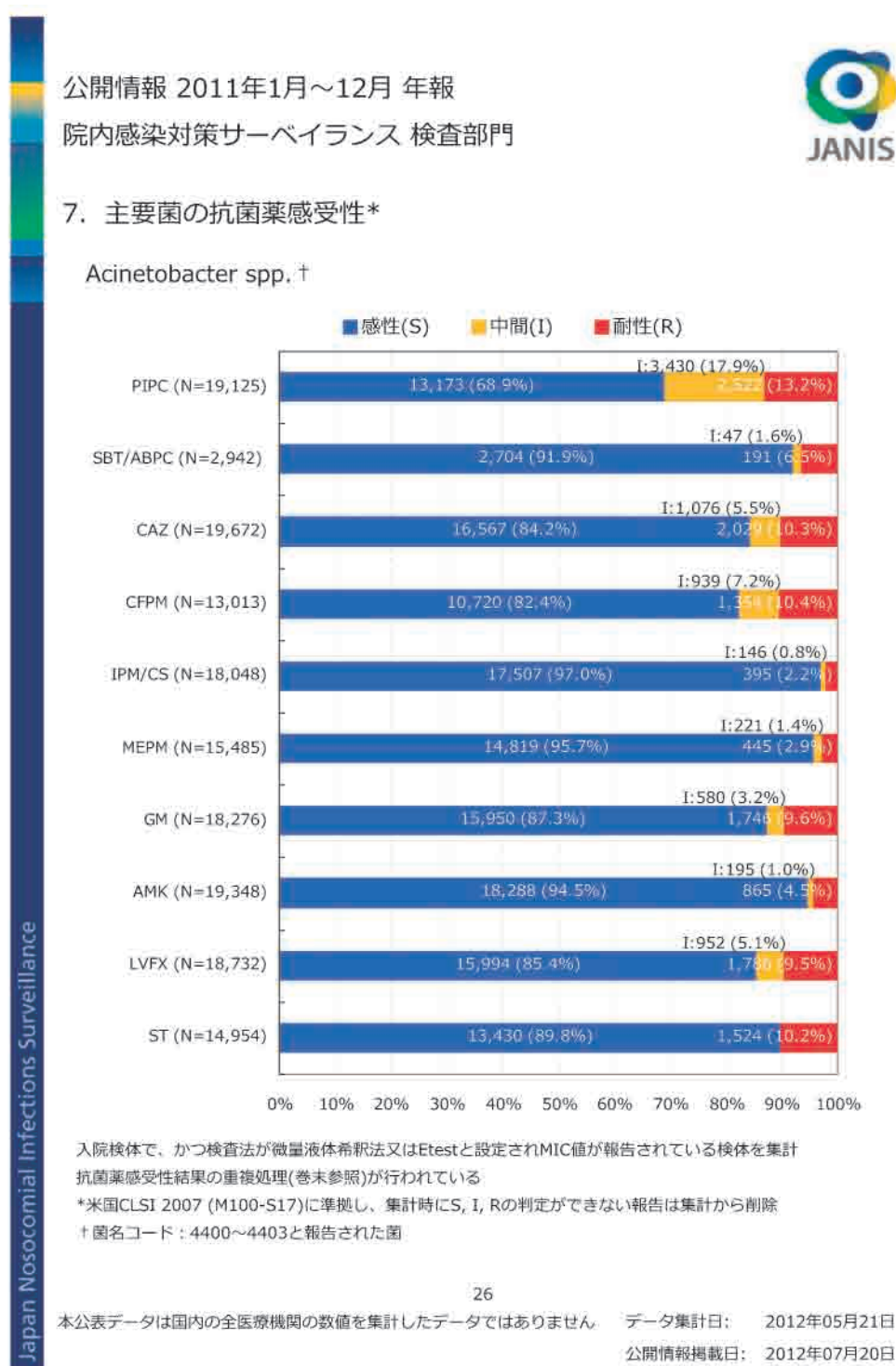
10. 緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa*

緑膿菌では、IPM、MEPM に対してそれぞれ 24.8%、18.6%が非感性だった。アミノグリコシド系抗菌薬のアミカシン（AMK）には 6.9%、LVFX に対しては 24.0%が非感性だった。これらは、2007 年以降の年次推移を見るとほぼ横ばいだった。JANIS 公開情報を以下に示す。2011 年に保菌者も含めて多剤耐性緑膿菌が一度でも分離された医療機関の割合は、59.6%だった。2011 年に入院患者で多剤耐性緑膿菌による感染症を発症した患者数は、総入院患者数 3,571,708 人中 303 名で、罹患率 0.08%だった。



11. アシネトバクター *Acinetobacter* spp.

Acinetobacter 属菌では、概して緑膿菌と比較して耐性菌の割合が若干低い傾向があった。IPM に対しては 3.0%、MEPM に対しては 4.3% が非感性だった。LVFX については、14.6% が非感性だった。LVFX の非感性菌は 2007 年では 12% で、近年僅かに増加傾向にある。JANIS 公開情報を以下に示す。



12. JANIS 事業の概要

最後に、JANIS 事業の概要について紹介する。JANIS 事業の参加医療機関は、本サーベイランスの趣意に賛同した原則 200 床以上の病院である。この事業は任意参加型の事業であり、感染症法に基づく調査とは別のサーベイランスである。JANIS 事業は検査部門、全入院患者部門、手術部位感染（SSI）部門、集中治療室（ICU）部門、新生児集中治療室（NICU）部門の 5 部門で構成されている。検査部門は、医療機関における主要菌種・主要な薬剤耐性菌の分離状況を明らかにすることを目的としている。全入院患者部門は全入院患者を対象とし、主要な薬剤耐性菌（MRSA, VRE, MDRP, PRSP, VRSA, MDRA）6 菌種による感染症の発生状況を明らかにすることを目的としている。手術部位感染（SSI）部門は医療機関における手術部位感染の発生状況を明らかにすること、集中治療室（ICU）部門は集中治療室で発生する 3 種類の院内感染症（人工呼吸器関連肺炎、カテーテル関連血流感染症及び尿路感染症）の発生状況を明らかにすること、新生児集中治療室（NICU）部門は新生児集中治療室で発生する院内感染症の発生状況を明らかにすることを目的としている。

JANIS 事業は公開情報と還元情報を提供している。サーベイランスの集計・解析評価情報をもとに、一般公開用の期報・年報をホームページ（下図）（<http://www.nih-janis.jp/>）、で公開する

とともに、参加医療機関の解析評価情報を、参加医療機関専用ページで還元している。還元情報は、全医療機関における自施設の位置づけを経年的に把握でき、その情報を「院内対策委員会」等の資料として活用できるように作成されている。

JANIS 事業では、公開されている情報以外にも、薬剤耐性菌に関する膨大なデータがデータベースに蓄積されている。ここで JANIS 事業は統計法による国の統計調査であるため、このデータベースを学術的な研究に利用することが認められている。専門家の先生に広く利用頂ければ幸甚である。研究利用の申請にあたっては、国立感染症研究所細菌第二部にご連絡頂きたい。



バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）

¹群馬大学大学院医学系研究科附属薬剤耐性菌実験施設

²細菌学講座

谷本 弘一¹、野村 隆浩²、富田 治芳^{1, 2}

■ 内容

1. はじめに	19
2. VRE の疫学	20
3. VRE の耐性機序	21
a バンコマイシンの作用機構と耐性機構	21
b バンコマイシン耐性遺伝子	21
c バンコマイシン耐性の分類	22
d VanA 型耐性遺伝子群をコードする Tn1546 のタイピング	23
4. VRE 感染症の診断	24
a VRE 検出法と抗菌薬感受性試験	24
b 臨床材料から VRE が分離された場合	24
c 糞便等検査材料よりの VRE の選択的分離	24
d van 遺伝子検出のための PCR	25
5. 治療	25
6. VRE の拡散を防ぐために	25
参考文献	26

1. はじめに

腸球菌は腸管常在菌で日和見感染菌である。近年、欧米において腸球菌が重症院内感染症の重要な原因菌として増加している。これは新たな薬剤耐性をもつ多剤耐性腸球菌の出現と拡がり、そしてそれらの耐性菌に無効な抗生物質を多く使用してきたことによる多剤耐性腸球菌の選択的増加と、重症の基礎疾患を持つ compromised host の増加などが原因と考えられている。腸球菌は種々の抗生物質に自然耐性であるだけでなく獲得耐性により高度耐性となる。そのなかで、バンコマイシン耐性腸球菌（vancomycin resistant *Enterococcus* : VRE）が院内感染の重要な原因菌となっている。VRE の多くは vancomycin のみならず感染治療のために先行使用した penicillin やアミノグリコシド系抗生物質にも高度耐性であるため、その感染症に有効な抗生物質が存在しない事も起こり得る。現在、バンコマイシン耐性 *Enterococcus faecium* に対してリネゾリド（Linezolid）、キノプリスチン-ダルホプリスチン（Quinopristin-Dalfopristin）が認可

されているが、耐性となった VRE はすでに海外で報告されており、慎重な使用が望まれる¹⁾。

グリコペプチド (glycopeptide) 系抗生物質には vancomycin、teicoplanin、avoparcin があり、グラム陽性菌感染症に有効な抗生物質である。作用機構は vancomycin において詳しく研究されているが、他の薬剤の作用機構も vancomycin と類似の機構と考えられている。グリコペプチド系薬剤おのおのの薬剤耐性菌は、それぞれ他のグリコペプチド系薬剤に交差耐性を示す。そのため VRE は、グリコペプチド耐性腸球菌 (glycopeptide resistant Enterococci : GRE) と呼ぶようになってきている。これまで VRE が一般的に用いられてきていたため本稿では VRE を GRE として用いる。

2. VRE の疫学

vancomycin、teicoplanin はヒトの感染症治療薬として、avoparcin は主として養鶏において飼料に添加され鶏の成長促進の目的で用いられてきた。vancomycin は世界的に用いられているが、teicoplanin は先進国では主としてヨーロッパで用いられ、近年日本でも認可されたが、米国では臨床治療薬として認可されていない。vancomycin は米国で50年近く使用されており、各種のグラム陽性菌感染症に広く用いられている。日本でも使用されているが MRSA に対する特効薬として注射剤は MRSA 感染症にのみ限定されている。ヨーロッパでの使用歴は各国において異なる。avoparcin は、ヨーロッパとアジアの一部の国において長期間用いられた。特にヨーロッパでは鶏腸管糞便中の VRE を選択的に増やし、それが人間の環境に入ってきたとされている。日本では約7年間用いられたが現在では使用されていない。日本における鶏の調査では avoparcin の VRE に対する影響は出ていない。

VRE 感染症の最初の報告は *E. faecium* によるもので1988年に英国、1989年にフランスでそれぞれ報告されている。いずれもバンコマイシンが多量に使用された病院において分離された。以後、欧米を中心に VRE による重症院内感染や、敗血症が報告されている。そして、高度バンコマイシン耐性のほか、ゲンタマイシン耐性、ペニシリン耐性を持つ多剤耐性腸球菌が医療従事者の手、便、あるいは感染患者または保菌患者の便や、病院環境から分離されており院内感染の原因となっている。VRE 感染症は院内感染によることが多い。グリコペプチド系 (vancomycin、teicoplanin)、セフェム系、アミノグリコシド系抗生物質等の複数の抗生物質の長期投与のほか、尿管カテーテル、または中心静脈カテーテル挿入状態等が VRE 感染症の原因となるとされている。

我が国では欧米での VRE の出現からしばらくの間ヒトからの VRE の分離報告はなかったが、1996年に81歳の女性入院患者の尿から初めて VanA 型 VRE (*E. faecium*) が分離された。この VRE はバンコマイシン、テイコプラニンに対して高度耐性であるだけでなくアミノグリコシド系を含め他のすべての抗生物質に耐性であった。この VRE の分離は一度きりで、便培養でも VRE は検出されず、VRE の腸管内定着を証明することはできなかった。これ以後、現在までに何例かの院内感染が報告されているがほとんどの場合散発的なものである。菌種も *E. faecium* のみならず *E. faecalis* も多く分離されている。欧米では *E. faecium* が大部分を占める事を考えると *E. faecalis* が多く分離されることは我が国の VRE の特徴である。耐性型は VanA 型と VanB 型が分離されているが海外と比べると VanB 型の分離頻度が高く、この点も我が国の VRE の特徴である。加えて世界的にも数例しか報告されていない VanD 型が1株 (*E. raffinosus*) 人

から、VanN 型が 1 株 (*E. faecium*) 鶏から分離されている。

腸球菌（主として *E. faecalis* および *E. faecium*）は、グラム陽性菌の中ではブドウ球菌と共に多剤耐性菌が存在することがその特徴にあげられる。腸球菌はゲンタマイシン、カナマイシンのようなアミノグリコシド系薬剤、あるいはセフェム系薬剤に対しては薬剤の細胞内への取り込みが低いため自然耐性である。そして、あらゆる薬剤に対して獲得耐性になり得る。テトラサイクリンでは70%、エリスロマイシンでは30%、クロラムフェニコールでは20%、そしてゲンタマイシン、カナマイシン、ストレプトマイシン高度耐性菌（獲得耐性）は20~30%前後とされる。ペニシリン耐性は、*E. faecalis* ではペニシリン分解酵素による耐性で、*E. faecium* ではペニシリン結合タンパク質の変化による耐性である。臨床分離される VRE の多くは現存するほとんどすべての抗生剤に耐性である。

3. VRE の耐性機序²⁾

a. バンコマイシンの作用機構と耐性機構

バンコマイシンはグラム陽性菌に有効で、その細胞壁の合成を阻害する抗菌剤である。グラム陰性菌においては薬剤が外膜を通過することができず、その作用点であるペプチドグリカン層に到達できない。そのためグラム陰性菌はバンコマイシンに対して自然耐性である。細菌の細胞壁物質はペプチドグリカン (peptidoglycan) で 2 種類の糖、N - アセチルムラミン酸 [N -acetylmuramic acid (MurNAc)] と N - アセチルグルコサミン [N -acetylglucosamine (GluNAc)] の繰り返し結合による直列の鎖が、ペプチドで架橋されている構造をとっている。すなわち糖鎖を縦糸とするとペプチドによる架橋を横糸とする網目構造をしているわけである。細胞壁が合成される時、まず糖鎖の構成成分の 1 つであるムラミン酸 (MurNAc) にアミノ酸が結合し、最終的に 5 個のアミノ酸によるペプチド (pentapeptide) が N - アセチルムラミン酸に付加される。その結果、UDP-MurNAc-L-Ala¹- γ -D-Glu²-L-Lys³-D-Ala⁴-D-Ala⁵ (UDP-MurNAc-pentapeptide) が形成される。次に、もう一つの糖である N - アセチルグルコサミン (GluNAc) と結合し、lipid-MurNAc (GluNAc) -pentapeptide を形成する。これが細胞壁合成の前駆体となる。次に合成中のペプチドグリカンの糖鎖の GluNAc と前駆体の MurNAc が結合し、ついでペプチド間の結合による糖鎖間の架橋反応が起こる。ペプチド同士が結合する時ペンタペプチドの 5 番目の D-Ala⁵が切られ、4 番目の D-Ala⁴が他のペプチドと結合することにより架橋ができる。

バンコマイシンはペプチド結合（架橋反応）が行われる前のペンタペプチドの -D-Ala⁴-D-Ala⁵ 部分に細胞膜外で結合する。そのため架橋反応が阻害され細胞壁合成が停止する。バンコマイシン耐性菌では正常に合成されたペンタペプチドの -D-Ala⁴-D-Ala⁵部分の 5 番目の D-Ala⁵が D-lactate（乳酸）、または D-serine（セリン）に置換され -D-Ala⁴-D-lactate⁵あるいは -D-Ala⁴-D-serine⁵となる。バンコマイシンはこれらに結合できないためバンコマイシン耐性となる。ペプチド鎖による架橋形成時には末端の -D-lactate⁵あるいは -D-serine⁵は切り離されるので出来上がった細胞壁は通常の細胞壁と変わりがない。

b. バンコマイシン耐性遺伝子

バンコマイシン耐性遺伝子の中で VanA 型耐性遺伝子が最も詳しく研究されている。この遺

伝子はトランスポゾン Tn1546 (10,851 bp) 中に存在する。バンコマイシン耐性遺伝子は *vanR*, *vanS*, *vanH*, *vanA*, *vanX*, *vanY*, *vanZ* の遺伝子からなり、*vanR*, *vanS* は *vanHAX* 発現のための調節遺伝子、*vanH*, *vanA*, *vanX*, *vanY* はバンコマイシン耐性のための遺伝子である。VanH 蛋白は酸化還元酵素で NADP(H) を酸化しピルビン酸を還元し D-lactate (乳酸) を生産する。VanA 蛋白は D-Ala と D-lactate の結合酵素 (ligase) でこれにより D-Ala-D-lactate が形成される。この dipeptide が UDP-tripeptide に結合され UDP-tripeptide-D-Ala⁴-D-lactate⁵ ができる。VanX 蛋白は正常な dipeptide である D-Ala-D-Ala を分解しバンコマイシンに感受性となるペプチドグリカン前駆体の産生を抑える。VanY 蛋白は正常な前駆体である UDP-tripeptide-D-Ala⁴-D-Ala⁵ から末端の D-Ala⁵ を切り離し VanX 蛋白と同様に感受性となるペプチドグリカン前駆体の産生を抑える。VanY 蛋白、VanX 蛋白によって切り出された D-Ala は -D-Ala⁴-D-lactate⁵ 合成のための基質として再利用される。VanZ 蛋白の機能は明らかになっていない。

c. バンコマイシン耐性の分類

バンコマイシン耐性遺伝子はこれまでのところ A、B、C、D、E、G、L、M、N の 9 つのタイプ (型) が報告されている。それぞれ結合酵素 (ligase) 遺伝子として *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM*, *vanN* が存在する。それぞれの耐性型において耐性遺伝子の構成が若干異なるが、基本となる耐性遺伝子とその働きは同じである。

VanA 型 : *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. avium* で分離されるが主として *E. faecium* において多く分離されている。ただし我が国においては *E. faecalis* からの分離も多い。この耐性はバンコマイシンおよびテイコプラニンによって誘導され高度耐性を示す。腸球菌にはグラム陽性菌では唯一高頻度接合伝達性プラスミドが存在し、VanA 型バンコマイシン耐性遺伝子もこのようなプラスミド上に存在し、菌と菌との接合によって耐性プラスミドが伝達することがある。VanA 蛋白は D-Ala と D-lactate から -D-Ala⁴-D-lactate⁵ を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。院内感染原因バンコマイシン耐性菌として最も問題になっている耐性型である。

VanB 型 : *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. gallinarum* で分離されている。通常 Tn1549 上に存在する。バンコマイシンによって耐性が誘導されバンコマイシンに対して中等度から高度耐性を示すがテイコプラニン感受性である。耐性遺伝子は染色体上に存在するとされてきたが近年接合伝達性プラスミド上に存在するものが分離されている。VanB 蛋白は VanA 蛋白同様 D-Ala と D-lactate から -D-Ala⁴-D-lactate⁵ を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。

VanC 型 : *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. flavescens* で分離されている。バンコマイシン耐性は常に発現されており低度耐性で、テイコプラニンに対しては感受性である。これら菌種の分離菌すべてが耐性であることから自然耐性であると考えられている。耐性遺伝子は染色体上に存在する。VanC 蛋白は D-Ala と D-serine を結合する酵素で -D-Ala⁴-D-serine⁵ を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。VanC 型の自然耐性菌においても感受性菌が生産する D-Ala:D-Ala 結合酵素 (ligase) と D-Ala:D-serine 結合酵素 (ligase) の両者を生産すると考えられている。

VanD 型 : *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. raffinosus* で分離されているが、これまでに世界

中で10株前後の報告しかない。バンコマイシンに対して中等度から高度耐性を示しテイコプラニンに対しては中等度から低度耐性である。耐性は誘導されることなく常に発現している。耐性遺伝子はこれまでのところ染色体上に存在している。VanD 蛋白は VanA、VanB 蛋白同様 D-Ala と D-lactate から -D-Ala⁴-D-lactate⁵を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。

VanE 型：*E. faecalis* からしか分離されていない。これまでに世界中で5株の報告しかない。バンコマイシンに対して低度耐性を示しテイコプラニンに対しては感受性である。バンコマイシンによって耐性は誘導される。耐性遺伝子はこれまでのところ染色体上に存在している。VanE 蛋白は VanC 蛋白同様 D-Ala と D-serine から -D-Ala⁴-D-serine⁵を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。

VanG 型：*E. faecalis* で分離されているが、これまでに世界中で3株の報告しかない。バンコマイシンに対して低度耐性を示しテイコプラニンに対しては感受性である。バンコマイシンによって耐性は誘導される。耐性遺伝子はこれまでのところ染色体上に存在している。VanG 蛋白は VanC、VanE 蛋白同様 D-Ala と D-serine から -D-Ala⁴-D-serine⁵を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。

VanL 型：*E. faecalis* がカナダで分離されている。VanL 蛋白は VanC、VanE、VanG 蛋白同様 D-Ala と D-serine から -D-Ala⁴-D-serine⁵を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。そのためバンコマイシンに対する耐性値は低い (MIC、8 µg/ml)。テイコプラニンについての記載は無いが、serine を末端に付加するグループに属することから感受性であると考えられる。バンコマイシンに対する耐性はバンコマイシンによって誘導される。接合伝達による耐性の伝達が観察されなかったことから、耐性遺伝子は染色体上に存在すると考えられている。

VanM 型：*E. faecium* が中国で1株報告されている。D-Ala と D-lactate から -D-Ala⁴-D-lactate⁵を末端に持つペプチドグリカン前駆体が形成されていることから、VanM 蛋白は VanA、VanB 蛋白同様 D-Ala : D-Lac ligase であると考えられる。バンコマイシンにもテイコプラニンに対しても高度耐性である。*E. faecium* への伝達が報告されていることから、耐性遺伝子はプラスミド上に存在していると考えられる。

VanN 型：*E. faecium* がフランスと我が国で分離されている。-D-Ala⁴-D-serine⁵を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成するタイプの耐性でバンコマイシンに対して低度耐性を示しテイコプラニンに対しては感受性である。同じタイプである VanE 型や VanG 型は誘導型の耐性発現を示すが VanN 型は VanC 型と同様に常に耐性発現を行っている。低い頻度ではあるが *E. faecium* への伝達が報告されていることから、耐性遺伝子はプラスミド上に存在していると考えられる。

d. VanA 型耐性遺伝子群をコードする Tn1546のタイピング

これまで分離されてきた VanA 型 VRE の持つ耐性遺伝子はすべて Tn1546にコードされており、我が国で分離された株も同様である。我が国で分離された株から得られた Tn1546の DNA 塩基配列を調べた結果、塩基置換や挿入配列 (IS) の有無、IS の転移による副産物であろう欠失の有無によって、現在までにプロトタイプ (図1) 以外に11種の型が見つかった。A、B、C、J、K型では異なる塩基置換や *vanY* 遺伝子における1塩基の欠失が見られた。D、E、F、

I 型では ORF 1、ORF 2 が欠失し、代わりに IS256 や IS1542 が挿入されていた。E、F 型においてはそれに加えて *vanX* と *vanY* の間に IS1216 の挿入が見られた。I 型ではさらに IS1216V が *vanY* 遺伝子内に挿入されており、その位置から下流の遺伝子が欠失していた。G、H 型においては ORF 1 の N 末領域が 120 bp あるいは 890 bp 欠失しており、その上流に IS1216V が存在していた。また、*vanS* と *vanH* の間に IS1251 が挿入されており、G 型においてはさらに *vanX* と *vanY* の間に IS1216 の挿入が見られた。これらのうち *vanS* 遺伝子内に 3 箇所の塩基置換を持つ B、C type がアジア地域に特徴的な型ではないかと思われる。

4. VRE 感染症の診断

a. VRE 検出法と抗菌薬感受性試験

1. 日本で臨床分離されるバンコマイシン感受性腸球菌の、バンコマイシンの MIC は $1\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下である。
2. バンコマイシンの MIC が $4\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の場合を感受性、 $8\sim 16\ \mu\text{g}/\text{ml}$ を判定保留、 $32\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を耐性とする。
3. VRE を検出するために液体培地を用いる時、バンコマイシンの最低濃度は $3\sim 4\ \mu\text{g}/\text{ml}$ が望ましい。
4. VanA 型 VRE の多くはバンコマイシン、ペニシリン、ゲンタマイシン ($>1,000\ \mu\text{g}/\text{ml}$) に高度耐性である。
5. VanA 型、VanB 型 VRE の治療のための感受性抗菌薬を調べる時にはクロランフェニコールを含めた現存するすべてのグラム陽性菌に有効な薬剤を調べる必要がある。
6. ディスク拡散法で抗菌薬感受性試験を実施している場合は、24 時間培養後に阻止円直径を透過光線下で測定する。
7. 寒天平板希釈法、寒天勾配希釈法、試験管液体希釈法、微量液体希釈法で最小発育阻止濃度を測定する場合は 24 時間培養する。

b. 臨床材料から VRE が分離された場合

VRE と思われる菌が分離された場合、施設で行っている抗菌薬感受性試験を用いてバンコマイシン耐性であることを確かめるか、腸球菌の集落を用いて McFarland 0.5 の菌浮遊液を調整したもの $1\sim 10\ \mu\text{l}$ をバンコマイシン $6\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 添加 BHI (Brain Heart Infusion) 寒天培地に接種し、 $35\sim 37^\circ\text{C}$ 、24 時間培養後に発育が認められたらバンコマイシン耐性とする。

c. 糞便等検査材料よりの VRE の選択的分離

1. 培地：Enterococcosel agar (BBL)、または EF 寒天培地 (日水製薬)、等を選択培地として用いる。
2. 検査材料あるいはスワブからあらかじめ VRE を選択的に増菌させたい時は検査材料等を入れたシャーレにバンコマイシン $6\ \mu\text{g}/\text{ml}$ を含む Enterococcosel broth (BBL) を 10ml 加え $35\sim 37^\circ\text{C}$ にて終夜培養する。その後、バンコマイシン $6\ \mu\text{g}/\text{ml}$ を含む上記寒天培地上に菌液 $100\ \mu\text{l}$ を塗布する。選択的増菌を行わない時はバンコマイシン $6\ \mu\text{g}/\text{ml}$ を含む上記寒天培地上に検査材料をエーゼまたはスワブにて直接塗布する。

3. 2日間35～37℃にて培養する。

4. Enterococcosel agar を用いた時、直径0.5～1.5mm 程度の黒または黒灰色のコロニー、EF 培地を用いた時、海老茶色 (*E. faecalis*)、黄色 (*E. faecium*) のコロニーをバンコマイシン耐性腸球菌と推定し、純培養を行い薬剤耐性検査、菌種の同定を行う。バンコマイシンを含む腸球菌分離用培地には VRE、*Pediococcus*、*Leuconostoc* が生育するが VRE は比較的コロニーが大きく液体培地での生育も良い。臨床分離腸球菌の80～90%は *E. faecalis* で他は *E. faecium* を主として *E. gallinarum* 等が分離される。

d. *van* 遺伝子検出のための PCR

VRE を証明するため、または VRE の *van* 遺伝子を検出し型別を行う時には結合酵素 (ligase) 遺伝子に特異的なプライマーを用いた PCR を行うのが簡便で迅速である。現在までに9つのバンコマイシン耐性型が報告されているが臨床上問題となる高度耐性を示す型はA、B、D、M型である。このうちM型は中国で1例の報告があるだけで、D型は我が国では1例報告されているだけにすぎないため、現実にはA型とB型の検出を念頭に置いておけば問題ない。また、自然耐性としてのC型が分離されうるためA型、B型、に加えC型の3つについてPCRを行えばよい。PCRのためのプライマーの塩基配列およびPCRの条件を表1に示した³⁾。同時に *E. faecalis* と *E. faecium* を鑑別するための、それぞれの D-Ala:D-Ala ligase 遺伝子に対するプライマーも表1に示した。これら6種類のプライマーを1度に用いて行う multiplex PCR が表1で示した条件で可能ではあるが、時折正しく検出されないことがあるのもっぱら別々の PCR 反応によって型別を行っている。臨床分離の株については MIC が高い場合には、まず VanA、B型についてPCRを行い、陰性であった場合や MIC が高くない場合には VanC 型について検討を行っている。食肉由来株については、まず VanC 型についてPCRを行って VanC 型を除外し、次に VanA、B型について検討を行っている。PCRに用いる鋳型 DNA として我々は菌体からの全 DNA を ISOPLANT (ニッポンジーン社 / 和光純薬) にて抽出し用いている。煮沸処理した浮遊菌液を用いたりコロニーから直接菌体を加えたりする方法⁴⁾もあるが、時折正しく検出されないことが経験されたことから時間が許す限り全 DNA を用いて PCR を行っている。

5. 治療

バンコマイシン耐性腸球菌、特に *E. faecium* に対して Linezolid (商品名 Zyvox)、Quinopristin-Dalfopristin (商品名 Synercid) が認可されているが、耐性となった VRE はすでに海外で報告されており、慎重な使用が望まれている。

6. VRE の拡散を防ぐために

VRE 保菌者の多くは、VRE が腸管に定着していることが多く VRE が糞便中に高濃度に含まれる。VRE は尿路感染症の尿からも分離されることが多いが、特に便からは常に排出され続ける状態が生ずる。そのため、VRE が検査材料から分離されたとき最初に行うことは、その患者や同室患者あるいは病院関係者の便に VRE が存在するかどうかを調べることであり、VRE を含

む便により環境汚染が広がらないようにすることである。

参考文献

- 1) Gonzales RD, Schreckenberger PC, Graham MB, et al. Infections due to vancomycin resistant *Enterococcus faecium* resistant to linezolid. Lancet. 357:1179. 2001
- 2) Depardieu F, Podglajen I, Leclercq R. Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression. Clin Microbiol Rev. 20:79-114. 2006
- 3) Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. J Clin Microbiol. 33:24-27. 1995.
- 4) Drews SJ, Johnson G, Gharabaghi F, et al. 24-hour screening protocol for identification of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. J Clin Microbiol. 44:1578-1580. 2006.

表 1 van 遺伝子検出のための PCR

Amplified gene	Size of PCR product (bp)	Oligodeoxynucleotide		Position	GC content (%)
		Pair	Sequence (5' to 3')		
<i>vanA</i>	732	A ₁	+GGGAAAACGACAATTGC	175-191	53
		A ₂	-GTACAATGCGGCCGTTA	907-891	53
<i>vanB</i>	635	B ₁	+ATGGGAAGCCGATAGTC	173-189	53
		B ₂	-GATTTGGTTCCTCGACC	807-791	53
<i>vanC-1</i>	822	C ₁	+GGTATCAAGGAACCTC	246-272	53
		C ₂	-CTTCGCCCATCATAGCT	1067-1051	50
<i>vanC-2, vanC-3</i>	439	D ₁	+CTCCTACGATTCTCTTG	455-486	47
		D ₂	-CGAGCAAGACCTTTAAG	885-869	47
<i>ddl_{E. faecalis}</i>	941	E ₁	+ATCAAGTACAGTTAGTCT	98-116	38
		E ₂	-ACGATTCAAAGCTAACTG	1038-1021	39
<i>ddl_{E. faecium}</i>	550	F ₁	+TAGGACATTGAATATGCC	NA ^b	37
		F ₂	-TCGAATGTGCTACAATC	NA	39

^a +, sense primer; -, antisense primer.

^b NA, not applicable.

PCRサイクル: 94°C 2分(1回)、94°C 1分→ 54°C 1分→ 72°C 1分(30回)、72°C 10分(1回)

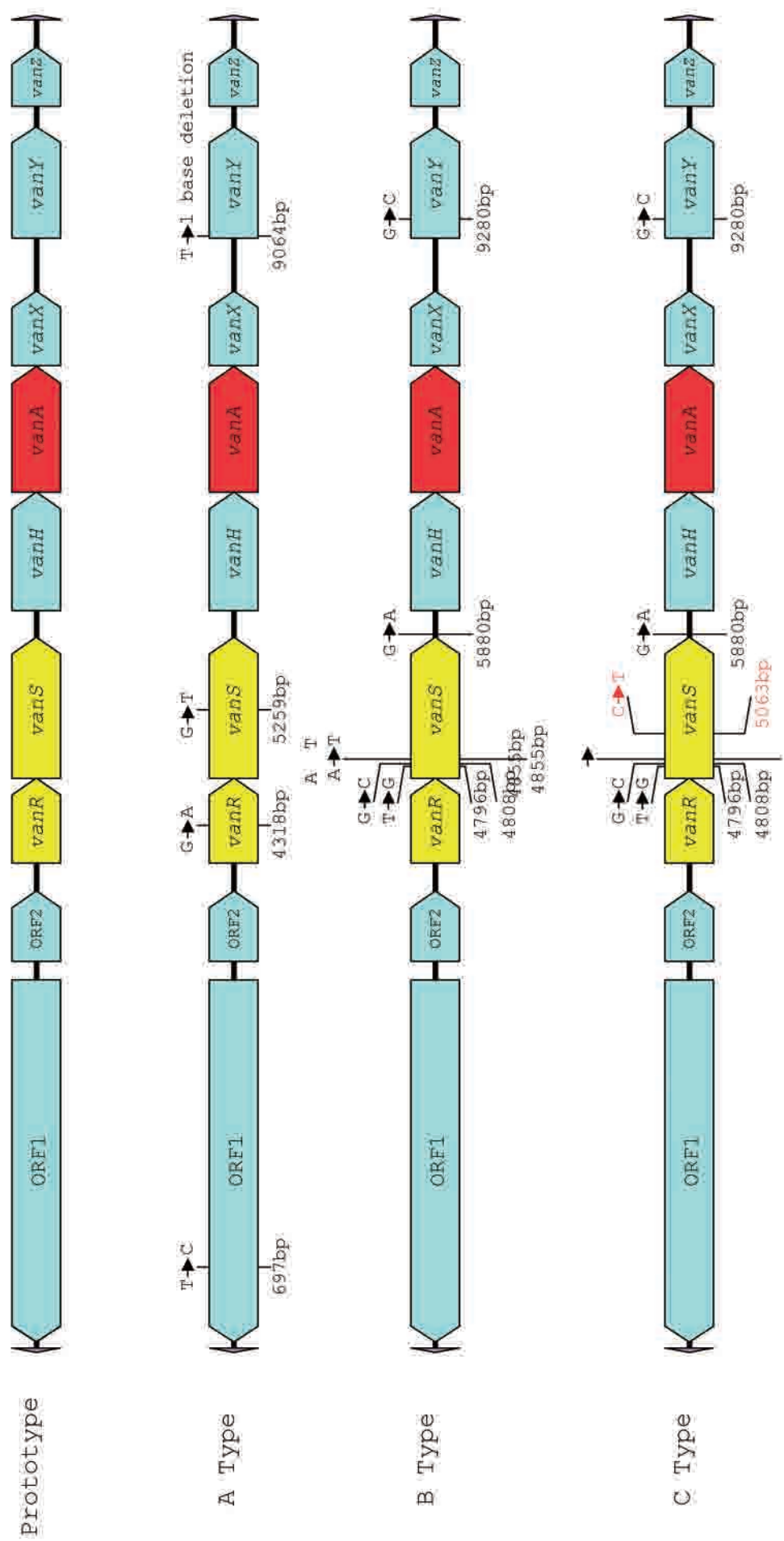


図1 *Tn1546*の構造とその型別

グラム陰性菌の薬剤耐性

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 荒川 宜 親

■ 内容

はじめに	30
1. 多剤耐性アシネトバクター	30
a. 多剤耐性アシネトバクターの定義	30
i. 感染症法に基づく届け出のための定義	30
ii. 感染制御や感染症治療のための定義	30
iii. 行政的に「定義」を定めた場合の弊害	31
b. 多剤耐性アシネトバクターの細菌学的特徴	31
c. カルバペネム耐性機構	32
d. フルオロキノロン耐性機構	32
e. アミノ配糖体耐性機構	32
2. メタロ- β -ラクタマーゼ産生グラム陰性桿菌	32
a. NDM-1産生菌	32
i. NDM-1を産生する菌種と NDM-1の変種	32
ii. NDM-1の遺伝子を担う伝達性 plasmid	33
iii. NDM-1産生株の遺伝的特徴	33
b. IMP- 型 MBL 産生菌	33
c. その他の MBL 産生菌	33
3. KPC 型カルバペネマーゼ産生菌	33
4. OXA 型カルバペネマーゼ産生菌	34
5. CTX-M- 型 β -ラクタマーゼ産生菌	34
a. CTX-M- 型 β -ラクタマーゼ産生菌の特徴	34
b. CTX-M- 型 β -ラクタマーゼ産生菌の急増の背景	35
6. AmpC- 型セファロスポリナーゼ産生株	35
a. 染色体性の AmpC 型セファロスポリナーゼ産生株	35
b. CMY- 型、MOX- 型、DHA- 型などのプラスミド媒介性セファロスポリナーゼ産生株	35
c. AmpC 型 β -ラクタマーゼ産生株の簡便な検出法	36
7. プラスミド媒介性キノロン耐性機構 (PMQR) を獲得した株	36
a. QnrA ~ D、QnrS 産生株	36
b. AAC(6')-Ib-cr 産生株	36
c. QepA 産生株	36
8. アミノ配糖体修飾不活化酵素	37

9. 16S rRNA メチル化酵素産生株	37
おわりに	37
参考文献	38

はじめに

近年、多剤耐性アシネトバクターや NDM-1 産生肺炎桿菌などの新型多剤耐性菌の出現や世界的な蔓延が大きな関心事となっている。

これらのグラム陰性多剤耐性菌による感染症には、有効性が期待できる抗菌薬が極めて限られており、海外の医療現場では、その広がりが強く懸念されている⁽¹⁾。今回は、わが国でも今後、医療環境で監視と対策が必要となる新型のグラム陰性多剤耐性菌が獲得している耐性機構等の概略について解説する。

1. 多剤耐性アシネトバクター

カルバペネム系、アミノ配糖体系、フルオロキノロン系の3系統全てに耐性を獲得したアシネトバクターは「多剤耐性アシネトバクター (MDRAB)」と呼ばれ、国内で認可されているほぼ全てのグラム陰性桿菌用の抗菌薬の効果が期待できないこともあり、感染症治療や感染制御の場面で、特別な対応が求められている。

a. 多剤耐性アシネトバクターの定義

多剤耐性アシネトバクターと判定する際に不可欠な「定義」については、2010年10月に、日本感染症学会を含む4学会からの「提言」にもあるように、その重要性、必要性が指摘されている。しかし、その「定義」については、海外でも明確に定められておらず、目的に応じて様々な「定義」が用いられているのが実態である。

i. 感染症法に基づく届け出のための定義

2011年1月18日に感染症法の一部改正が行われ、「多剤耐性アシネトバクター感染症」が、5類感染症の定点把握疾患に追加され、定点報告施設に指定されている医療機関において本耐性菌による感染症患者が発生した場合には、保健所を通じて、厚生労働省に報告することが新たに求められることとなった。定点報告のために用いられる定義の詳細については省略するが、この定義はあくまでも、感染症法に基づく届け出（サーベイランス）のための定義（基準）であり、感染制御や感染症治療のための定義ではない点に留意する必要がある。たとえば、カルバペネム系とフルオロキノロン系の2系統に耐性を獲得してはいるが、アミノ配糖体系に対しては「感性」と判定される株が入院患者より検出され、感染症の主因菌と考えられる場合には、感染症法に基づく届け出は不要と考えられるが、感染制御の観点からは、以下に述べるように接触予防策の点検や強化等の対策が必要となる場合が多い。

ii. 感染制御や感染症治療のための定義

医療機関内への多剤耐性アシネトバクターの侵入や蔓延を防ぐための日常的な感染制御の観点

で必要とされている定義としては、感染症法の報告のために定められている定義に加え、多剤耐性アシネトバクターの予備軍となりうる二系統耐性のアシネトバクターなども視野に入れたやや広めの定義が必要になる。また、感染症治療のための定義としては、アシネトバクターのカルバペネム耐性が、OXA-型のカルバペネマーゼの産生なのかIMP-1などのメタロ-β-ラクタマーゼの産生によるものなのか、さらに、アミノ配糖体耐性が、アミノ配糖体アセチル化酵素の産生なのか、16S rRNAメチルトランスフェラーゼの産生かによって、カルバペネムやアミノ配糖体への耐性度のレベルが異なってくるため、そのような情報が抗菌薬の選択に影響することを考慮して、「サーベイランスのための定義」や「感染制御のための定義」より、さらにきめ細かな「定義」が必要となってくると考えられる。そこで、感染制御や感染症治療を目的した定義は、その分野の専門家の意見や経験と学術的な根拠を反映したものではなくてはならず、日本感染症学会などの学術団体が自発的にその原案を作成し、それらを参考に、個々の医療機関で自施設の実態に合致した「定義」を定めることが、最も実際的と考えられる。

iii. 行政的に「定義」を定めた場合の弊害

筆者が国立感染症研究所に在職中に、一部の専門家の方々から、多剤耐性アシネトバクターの「定義」を厚生労働省やその研究班で作成してほしいと求められたこともある。厚生労働省としては、感染症法に基づく届け出のための「基準」を定めているが、前述したように、この「基準」は、感染症発生動向調査という、あくまでもサーベイランスのための基準であり、感染制御や感染症治療のための「基準」ではない。厚労省やその研究班が、感染制御や感染症治療のための「基準」を作成することは可能であろうが、もしそのような「基準」が作成された場合、法令に準じた拘束力を持つと誤解されかねない危険性もある。そのような状況下で、万一、国内のいずれかの医療機関において、多剤耐性アシネトバクターのアウトブレイクが発生し不幸にして患者さんが死亡されるなどの事象が発生した場合、『厚労省が定めたとおりの「基準」に従い日常的な監視や対策を講じていなかった』などと、医療機関側が、本質的でない部分で、過失責任や不作為を問われるような事態にもなりかねない。したがって、感染制御や感染症治療のための「基準」は、行政的に定めるのではなく、あくまでも学会などで専門家の意見や判断を織り込んで自発的に原案を作成し、それを参考に各医療機関は各々の医療機関の特性や機能等を考慮して、自施設に適した「定義」を作成し自主的に運用することが肝要と考えられる。

b. 多剤耐性アシネトバクターの細菌学的特徴

アシネトバクター属菌は、環境中に普遍的に見られる菌種であり、有機物と水分を適当に含む土壌や堆肥などから分離される。医療環境で院内感染症の起因菌として問題となる菌種は、数多い *Acinetobacter* 属菌の中でも、*Acinetobacter baumannii* と同定される菌種あり、さらに、その中でも Bartual らが提案している MLST 解析⁽²⁾ で ST92またはその近縁の clonal complex 92 (CC92) と呼ばれる特定の遺伝型に属する一群のクローナルな菌株である。CC92はパスツール研究所が提案している MLST 解析では ST2に属し、これは、従来、ヨーロピアンクローン2などと呼ばれていた遺伝型に概ね一致する。現在、世界各地で多剤耐性を獲得したアシネトバクターが医療環境で広がりアウトブレイクを引き起こしているが、その多くが、CC92と判定される菌株によるものである。*A. baumannii* は、数ある *Acinetobacter* 属菌の中でも、長鎖の炭化水素鎖を分解する能力を有しており、石油や脂肪などのアルキル基を分解してエネルギー源とすることができる。そのため、脂肪分の多い皮膚表面にも定着しやすく、*A. baumannii* は、皮膚

の拭き取り試験で効率よく分離されると報告されている⁽³⁾。

c. カルバペネム耐性機構

A. baumannii は、ほぼ全ての株が染色体上に OXA-51あるいは OXA-51-like と呼ばれる OXA-型カルバペネマーゼの遺伝子を保有している。しかし、通常では、それらの遺伝子にはプロモーターを欠くため発現せず、カルバペネム耐性を示さない。しかし、OXA-型カルバペネマーゼの遺伝子上流にプロモーター活性を有する挿入配列 (IS*AbaI* など) が挿入されることにより遺伝子が発現し、カルバペネム耐性を示すようになる。また、OXA-51型カルバペネマーゼ以外に外来性の OXA-23-like や OXA-58-like などのカルバペネマーゼを産生する株がある。一方、OXA-型カルバペネマーゼとは分子クラスの異なる IMP-1型などのメタロ- β -ラクタマーゼを産生する株も散見される。

d. フルオロキノロン耐性機構

A. baumannii におけるフルオロキノロン耐性機構は、基本的には緑膿菌における耐性機構と同じであり、第一義的には DNA gyrase や topoisomerase IV の QRDR 領域の変異であるが、RND family に属する AdeABC などの排出ポンプも関与している。

e. アミノ配糖体耐性機構

A. baumannii におけるアミノ配糖体耐性機構は、基本的には他のグラム陰性桿菌と同じであり、第一義的にはアミノ配糖体の修飾不活化酵素の産生である。修飾不活化酵素としては、アミノ配糖体のアセチル化、リン酸化、アデニリル化などを行う酵素である。これらはプラスミド媒介性も見られるが、染色体上にこれらの酵素の遺伝子が挿入された株も多い。注目すべきは、アミノ配糖体の標的である 30S リボゾームの 16S rRNA をメチル化する酵素 (ArmA など) を産生する株が、中国や米国で多数確認されており^(4,5)、それらは、臨床でよく用いられるゲンタマイシン系およびカナマイシン系の双方のアミノ配糖体系抗生物質に対し、広範囲高度耐性 (MIC, >256 mg/L) を示すのが特徴である。

2. メタロ- β -ラクタマーゼ産生グラム陰性桿菌

a. NDM-1産生菌

2010年8月に Lancet Infectious Diseases の電子版に、インドやパキスタン地域から帰国した多数の英国在住者から、カルバペネム耐性の肺炎桿菌等が分離され、それらは、NDM-1と命名された新型のメタロ- β -ラクタマーゼ (MBL) を産生しているという論文が掲載された。MBLを産生する菌種としては、これまでは、緑膿菌等の医療関連感染症の原因となる菌種が多かったが、NDM-1産生菌は、高齢者などの市中肺炎や成人女子などに多く見られる尿路感染症などの起原菌となりうる肺炎桿菌や大腸菌といった菌種で多いことから、医療関連感染のみならず公衆衛生上も問題となりうるという理由で、国際的にも大きな関心事となった。

i. NDM-1を産生する菌種と NDM-1の変種

NDM-1を産生する菌種としては、肺炎桿菌がもっとも一般的であり、次に大腸菌という順番である。その他の腸内細菌科菌群や緑膿菌、アシネトバクターなどでも NDM-1産生株が報告さ

れている。注目すべきは、病原性の強い赤痢菌、サルモネラ属菌、コレラ菌なども NDM-1 産生株がインドで確認されている点である。なお、NDM-1 と比べアミノ酸配列が異なる変種として 2012 年 7 月の時点で NDM-2 ～ NDM-7 がデータベースに登録されている。

ii. NDM-1 の遺伝子を担う伝達性 plasmid

NDM-1 の遺伝子は、多くの場合、IncA/C や IncL/M など、宿主域の広い伝達性プラスミドにより媒介されている⁽⁶⁾ため、上記したように、肺炎桿菌や大腸菌などの腸内細菌科の菌種から緑膿菌やアシネトバクター属菌、さらにビブリオ属菌等、幅広い菌種に伝達拡散しつつあり、今後、NDM-1 を産生する菌種の増加が懸念されている。

また、NDM-1 の遺伝子を担うプラスミド上には、その他にも CMY- 型のセファロスポリナーゼの遺伝子（後述）や各種のアミノ配糖体を修飾不活化する酵素や 16S rRNA メチルトランスフェラーゼ（後述）の遺伝子など様々な耐性遺伝子が担われており、カルバペネムを使用せず、アミノ配糖体だけでも近傍に存在する同種、異種の細菌に対し NDM-1 の遺伝子を担うプラスミドの接合伝達を促す可能性がある。

iii. NDM-1 産生株の遺伝的特徴

これまでに NDM-1 を産生するとして検出されている菌種としては肺炎桿菌が多く次ぎに大腸菌であることは前述した。しかし、肺炎桿菌では、MLST 解析で ST14 がインド地域で多いと報告されていたが、英国では、ST14 とは遺伝的に距離のある ST231 や ST273 が多く検出されている⁽⁷⁾。また、大腸菌では、ST101 などが世界的に広がっていることが明らかとなっている⁽⁸⁾。

b. IMP- 型 MBL 産生菌

IMP-1 は、腸内細菌科の菌種がプラスミド依存性に産生する MBL として最初に *Serratia marcescens* で特定された⁽⁹⁾。その後、緑膿菌やその他のブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌、さらに各種の腸内細菌科菌種でも確認され、現在、世界中に広がっている MBL の一つである。VIM- 型や NDM-1 型と比べ、カルバペネムを効率よく分解するという特徴を示す。IMP- 型 MBL としては、2012 年 7 月の時点で、IMP-37 までが登録されている。

c. その他の MBL 産生菌

欧州では VIM- 型の MBL を産生する緑膿菌やアシネトバクターなどが多く、IMP- 型産生株は相対的に少ない。南米では SPM-1 を産生する緑膿菌が多く分離されている。その他、GIM-1、SIM-1 など MBL 産生株もドイツや韓国等地域的に検出されている。プラスミド媒介性などの獲得型の MBL はこれまで、多くがサブクラス B 1 に属していたが、最近、サブクラス B 3 に属する新型の MBL（SMB-1）を産生する *Serratia marcescens* が、わが国において発見された⁽¹⁰⁾。注目すべきは、SMB-1 は、NDM-1 よりカルバペネムを分解する活性が高いという特徴を示す点である。

3. KPC 型カルバペネマーゼ産生菌

1990 年代の後半から、米国のニューヨークやその近隣の地域でカルバペネム耐性を示す肺炎桿菌が検出され始めた。KPC 型カルバペネマーゼは、ESBL 等と同じクラス A 型 β -ラクタマーゼに属するが、アミノ酸配列は、TEM- 由来、SHV- 由来の ESBL より、CTX-M- 型や *Klebsiella*

oxytoca の染色体性 β - ラクタマーゼに近いという特徴を示す。

2012年7月時点で、KPC-12までがデータベースに登録されている。しかし、世界的には KPC-2が広がる傾向があり、アメリカ、イスラエル、ギリシャ、欧州、などで多く分離され、中国では特に、浙江省、成都、杭州などでも広がりを見せている。

KPC- 型カルバペネマーゼ産生株は、肺炎桿菌以外にも腸内細菌科の各種の菌種や緑膿菌、アシネトバクター属菌からも検出されており、今後の拡散が懸念されている。また、KPC- 型カルバペネマーゼ産生株はカルバペネム以外にも多くの広域 β - ラクタム薬に耐性を示すが、肺炎桿菌のみならず KPC 型カルバペネマーゼを産生する緑膿菌等でもタゾバクタムとピペラシリンの合剤にも高度耐性 ($> 256\mu\text{g/ml}$) を示し⁽¹¹⁾、さらに、クラスC型 β - ラクタマーゼを阻害する、3-アミノフェニルボロン酸などのボロン酸化合物によっても阻害されるという特徴を示す。

4. OXA 型カルバペネマーゼ産生菌

OXA 型 β - ラクタマーゼは、ESBL や AmpC 型 β - ラクタマーゼと同じくセリン型の β - ラクタマーゼに属するが、分子量が最も小さいクラスDに属する。オキサシリンを効率よく分解するので、当初はオキサシリナーゼとも呼ばれていたため OXA- 型 β - ラクタマーゼと呼ばれている。しかし、OXA- 型 β - ラクタマーゼの中に、カルバペネムを分解することが可能な一群のグループが出現し、OXA 型カルバペネマーゼと呼ばれるようになった。多剤耐性アシネトバクターの章で記載したように、OXA-51-like、OXA-23-like、OXA-24/40-like、OXA-58-like の4つのサブ系統が知られていたが、数年前より、欧州で OXA-48と命名された新型の OXA 型カルバペネマーゼを産生する肺炎桿菌が増加し始め、全欧州に広がる勢いを見せておりその動向が注目されている⁽¹²⁾。

5. CTX-M- 型 β - ラクタマーゼ産生菌

a. CTX-M- 型 β - ラクタマーゼ産生菌の特徴

CTX-M- 型 β - ラクタマーゼは、第三世代セファロスポリンであるセフトキシム (CTX) やセフトリアキソン (CTRX) を効率よく分解するため、CTX-M-1やCTX-M-15などと連番が付けられて命名されてきた。多くは、肺炎桿菌や大腸菌などがプラスミド依存性に産生するが、現在では、その他の腸内細菌科の菌種とともに緑膿菌、アシネトバクター属菌でも産生株が出現している。当初は、MEM-1やToho-1、UOE-1などと呼ばれていた酵素も現在ではCTX-M-型に統一されている。CTX-M- 型 β - ラクタマーゼは、アミノ酸配列の比較からCTX-M-1のグループ、CTX-M-2のグループ、CTX-M-9のグループ等に分けられる。CTX-M- 型 β - ラクタマーゼは、CTX を効率よく分解できるが、セフトジジム (CAZ) はあまり分解できない。しかし、CTX-M-1のグループでは、CTX-M-15やCTX-M-55、CTX-M-2のグループではCTX-M-35、CTX-M-9のグループでは、CTX-M-27等、酵素の Ω ループ領域などにアミノ酸の置換を獲得した一部の酵素で、CTX や CTRX とともに CAZ も分解するという特性を獲得し、ヒト臨床検体から、CTX-M-15を産生する株が、近年、欧米のみならずわが国でも多く分離されるようになっている。

b. CTX-M- 型 β - ラクタマーゼ産生菌の急増の背景

2000年代に入ると、世界的な規模で、大腸菌において CTX 耐性株が急増し、それらは、フルオロキノロンにも同時に耐性を示す場合が多く、今後の動向が懸念されている。この現象の背景の一つとして大腸菌 O25 : H4 などのような特定の血清型の株の世界的な拡散がある。O25 : H4 株の多くは MLST 解析では ST131 と判定され、フルオロキノロン耐性を獲得している⁽¹³⁾。この種の耐性株が、市中で普通に生活している健常者の腸管内にも定着し始めているのが、近年の CTX/CTX-M およびフルオロキノロン二系統耐性株の急増の背景の一つとなっていると考えられている。

また、健常者の腸管内にこのような耐性株の定着が促進される要因として、CTX-M- 型 ESBL の遺伝子を担う大腸菌等が、鶏肉などから高頻度に分離される事実が指摘されている。たしかに鶏糞便や鶏肉から分離される大腸菌のタイプは、ヒトから分離されるタイプと遺伝的な系統が異なる場合が多い。しかし、鶏の腸管内に定着しやすい株で汚染された食肉や食品を摂取することで、ヒトの腸管内にそれらの菌が一時的に侵入し、そこで、ヒトの腸管に定着しやすいタイプの大腸菌に耐性遺伝子を担うプラスミドが伝達されることにより、CTX-M- 型 ESBL を産生する大腸菌 O25 : H4 などのようなヒトの腸管に定着しやすい耐性株が出現している可能性も考慮し、調査や研究結果の解釈をすることが重要となっている。

6. AmpC- 型セファロスポリナーゼ産生株

a. 染色体性の AmpC 型セファロスポリナーゼ産生株

Enterobacter 属や *Citrobacter* 属、*Serratia* 属などの腸内細菌科の菌群、さらに緑膿菌やアシネトバクター属菌などのブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌は、染色体上に AmpC 型セファロスポリナーゼの遺伝子を生来保有しており、しかも、それらは、誘導型の遺伝子発現調節を受けている。そのため、生来、セファレキシムやセファゾリンなどの初期のセファロスポリンに耐性を示す。 β - ラクタム薬の無い環境では、AmpC の産生は抑制されているが、 β - ラクタム薬が存在すると AmpC の産生が亢進し、セファロスポリンへの耐性度が上昇するという現象が見られる。しかし、広域セファロスポリン系抗菌薬が多量に使用される医療環境では、一部の臨床分離株において、この調節機構が壊れ、常時、多量の AmpC が構成的 (constitutive) に産生され、各種のセファロスポリンに対する耐性度が上昇した株が存在している。さらに、特定の外膜蛋白の欠失により、より高い耐性度を獲得した株も報告されている。

b. CMY- 型、MOX- 型、DHA- 型などのプラスミド媒介性セファロスポリナーゼ産生株

1990年代の中頃より、プラスミド依存性にセファロスポリンやセファマイシンに耐性を獲得した肺炎桿菌や大腸菌が分離され始めた。これらの株は、AmpC 型セファロスポリナーゼをプラスミド依存性に過剰産生し、しかも、それらの酵素は活性に関与する領域を構成するアミノ酸配列に若干の変異を獲得しており、第三世代セファロスポリンのみならずセファマイシンをも効率よく分解することができるという特徴を示すため、現在、CMY 型と統一名で呼ばれるようになった。MOX- 型は、現在、MOX-8まで登録されているが、CMY-8や CMY-9⁽¹⁴⁾ に近い酵素である。

現在、世界中に拡散が懸念されている NDM-1産生株は、NDM-1の遺伝子を担う伝達性プラスミド上に CMY-4などの AmpC 型セファロスポリナーゼの遺伝子を同時に保有していることが多

いため、MBL 産生株のスクリーニング法である SMA disk 法により NDM-1 産生株の検出が難しい事例も多い。

c. AmpC 型 β - ラクタマーゼ産生株の簡便な検出法

CMY- 型などを含む AmpC 型セファロスポリナーゼに対してはボロン酸化合物が阻害活性を示すことから、現在、3-アミノフェニルボロン酸などを用いたダブルディスク法や微量液体希釈培養法⁽¹⁵⁾ が一部の細菌検査室で実施され、スクリーニングや鑑別に用いられている。

7. プラスミド媒介性キノロン耐性機構 (PMQR) を獲得した株

細菌におけるフルオロキノロン耐性の主たる機構は、染色体依存性に産生される DNA ジャイレース (GyrA) やトポイソメラーゼ IV (ParC) などのキノロン耐性決定領域 (QRDR) のアミノ酸配列の変異である。また、キノロン排出ポンプの機能亢進も関与している。しかし、これらの染色体依存性のフルオロキノロン耐性機構に加え、近年、以下のようなプラスミド媒介性の耐性機構が次々と発見されている。

a. QnrA ~ D、QnrS 産生株

類似のアミノ酸残基が5つの周期で繰り返して並んだ構造を持つ一群のペプチドが、キノロン耐性に影響を及ぼすことが、1990年代以降、相次いで発見されてきた。このペプチドは特定のアミノ酸が周期的に繰り返し並んだ構造を持つため、丁度 DNA の二重螺旋構造と類似 (mimic) した立体構造を示し、2分子会合すると DNA 断片のような構造となり、GyrA や ParC に結合し、これらの分子に対するキノロンの影響を減弱させ、分子の安定化や保護に関与すると考えられている。現在までに QnrA ~ QnrD, QnrS などの5つの亜型が確認されており、また、それぞれの亜型では、例えば QnrA では QnrA1 ~ QnrA3 などといった変種が出現している。

b. AAC(6')-Ib-cr 産生株

多くのグラム陰性桿菌における一般的なアミノ配糖体耐性機構としてアミノ配糖体アセチル化酵素 [AAC(6')-Ib] がよく知られている。この酵素は、臨床現場でよく用いられているカナマイシン系やゲンタマイシン系に属するアミノ配糖体の糖 (I) の (6') の C 炭素に結合した -NH₂ 基をアセチル化する酵素である。しかし、この酵素と3カ所アミノ酸残基が置換した酵素 [AAC(6')-Ib-cr] は、アミノ配糖体の (6') の N アセチル化とともに、ノルフロキサシンやシプロフロキサシンなどのフルオロキノロンのピペラジニル基の NH 基をアセチル化する能力を獲得している⁽¹⁶⁾。また、AAC(6')-Ib-cr の遺伝子は、NDM-1 産生株や CTX-M-15 産生株などの保有する伝達性プラスミド上にしばしば存在しており、各種のグラム陰性桿菌に伝播拡散しつつある。

c. QepA 産生株

シプロフロキサシン (ヒト用) やエンロフロキサシン (家畜用) などのフルオロキノロンを菌体外へ排出する機能を示す新しいプラスミド媒介性排出ポンプとして QepA が国内の臨床分離菌より世界で最初に発見された⁽¹⁷⁾。QepA は、*Polaromonas* 属や *Nocardia* 属などが持つ排出ポンプとやや類似した構造を持つ14回膜貫通型のトランスポーターであり、細菌の細胞膜の内外に

生じている H^+ の濃度勾配のエネルギーを利用して特定の物質を細胞外に排出する MFS 型輸送蛋白に属する。注目すべき事柄として QepA の遺伝子は、16S rRNA メチルトランスフェラーゼ (RmtB) や CTX-M- 型 ESBL の遺伝子を同じプラスミド上に存在することが多く、中国では、ヒト臨床検体のみならず、家畜やイヌ、猫などのペット動物からも広く検出されており⁽¹⁸⁾、畜産現場や市中における QepA 産生菌の拡散が懸念されている。

8. アミノ配糖体修飾不活化酵素

アミノ配糖体耐性の主たる分子機構は、アミノ配糖体修飾不活化酵素の産生である。具体的には、アミノ配糖体アセチル化酵素 (AAC)、アミノ配糖体リン酸化酵素 (APH)、アミノ配糖体アデニリル化酵素 (AAD) である。AAC は、アミノ配糖体の $-NH_2$ 基にアセチル基を付加する酵素であり、APH は、アミノ配糖体の $-OH$ 基にリン酸基を付加する酵素である。AAD は、アミノ配糖体の $-OH$ 基にヌクレオチドであるアデニリル基を結合させるためアミノ配糖体ヌクレオチジルトランスフェラーゼ (ANT) とともに記述されることがあるが、両者は同じ酵素であり、AAD/ANT と記載される場合もある。多くは伝達性プラスミドに依存して産生されるが、*Acinetobacter* 属菌などでは、染色体上にこれらの酵素の遺伝子が integrate した株も多い。

9. 16S rRNA メチル化酵素産生株

前述した、アミノ配糖体の側を修飾する耐性機序と異なり、アミノ配糖体の標的分子である 16S rRNA のメチル化酵素 (16S rRNA メチレーズ、16S rRNA メチルトランスフェラーゼなどと記載される。) を産生する臨床分離株が近年出現し大きな関心事となっている。16S rRNA のメチル化酵素は、現在までに、RmtA ~ RmtF、ArmA および NpmA の 8 種類の亜型が発見されており、さらに、RmtB では、RmtB1, RmtB2, RmtB3 の 3 つの変種、RmtD も RmtD1 と RmtD2 の 2 つの変種が出現している。多くの場合、これらの酵素の遺伝子は伝達性プラスミドにより媒介されており、大腸菌や肺炎桿菌から緑膿菌やアシネトバクター属菌等の幅広いグラム陰性桿菌にまで広がっている。憂慮すべきことは、NDM-1 を産生する株の多くは同時に RmtB や RmtA、RmtC などを同時に産生することがあり、多剤耐性株として臨床分離株のみならず家畜やペット等からも検出されている⁽¹⁹⁾。

おわりに

以上、概説したように、21世紀に入り、多剤耐性を獲得した各種のグラム陰性桿菌が相次いで出現し、それらが獲得している耐性機構も複雑多様となっている (別表)。また、多剤耐性緑膿菌や多剤耐性アシネトバクター、KPC 産生肺炎桿菌などによる感染症例においては、有効性が期待できる抗菌薬が極めて限られるなど深刻な事態が国内外で進行しつつある。医療現場において日常的な感染制御や抗菌化学療法を実施する際には、感染ルートなどの特定とともに感染症例では感染部位や患者の全身状態を把握しつつ、感染症の原因となっている細菌の側の特徴についても十分に理解、考慮し、対策や治療に反映することが必要となっており、この研修会がそのようなヒントを得る場として生かされることを願っている。

参考文献

1. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! Trends Mol Med. 2012 May; 18(5): 263-72.
2. Bartual SG, Seifert H, Hippler C, Luzon MA, Wisplinghoff H, Rodríguez-Valera F. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol. 2005 Sep; 43(9): 4382-90.
3. Doi Y, Onuoha EO, Adams-Haduch JM, Pakstis DL, McGaha TL, Werner CA, Parker BN, Brooks MM, Shutt KA, Pasculle AW, Muto CA, Harrison LH. Screening for *Acinetobacter baumannii* colonization by use of sponges. J Clin Microbiol. 2011 Jan; 49(1): 154-8.
4. Yu YS, Zhou H, Yang Q, Chen YG, Li LJ. Widespread occurrence of aminoglycoside resistance due to ArmA methylase in imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in China. J Antimicrob Chemother. 2007 Aug; 60(2): 454-5.
5. Doi Y, Adams JM, Yamane K, Paterson DL. Identification of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* clinical strains in North America. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Nov; 51(11): 4209-10.
6. Sekizuka T, Matsui M, Yamane K, Takeuchi F, Ohnishi M, Hishinuma A, Arakawa Y, Kuroda M. Complete sequencing of the *bla*_{NDM-1}-positive IncA/C plasmid from *Escherichia coli* ST38 isolate suggests a possible origin from plant pathogens. PLoS One. 2011; 6(9): e25334.
7. Giske CG, Fröding I, Hasan CM, Turlej-Rogacka A, Toleman M, Livermore D, Woodford N, Walsh TR. Diverse sequence types of *Klebsiella pneumoniae* contribute to the dissemination of *bla*_{NDM-1} in India, Sweden, and the United Kingdom. Antimicrob Agents Chemother. 2012 May; 56(5): 2735-8.
8. Mushtaq S, Irfan S, Sarma JB, Doumith M, Pike R, Pitout J, Livermore DM, Woodford N. Phylogenetic diversity of *Escherichia coli* strains producing NDM-type carbapenemases. J Antimicrob Chemother. 2011 Sep; 66(9): 2002-5.
9. Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, Yoshimura F, Kato N. Molecular characterization of an enterobacterial metallo- β -lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. Antimicrob Agents Chemother. 1994 Jan; 38(1): 71-8.
10. Wachino J, Yoshida H, Yamane K, Suzuki S, Matsui M, Yamagishi T, Tsutsui A, Konda T, Shibayama K, Arakawa Y. SMB-1, a novel subclass B3 metallo- β -lactamase, associated with ISCR1 and a class 1 integron, from a carbapenem-resistant *Serratia marcescens* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Nov; 55(11): 5143-9.
11. Villegas MV, Lolans K, Correa A, Kattan JN, Lopez JA, Quinn JP; Colombian Nosocomial Resistance Study Group. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing β -lactamase. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Apr; 51(4): 1553-5.
12. Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Miriagou V, Naas T, Rossolini GM, Samuelsen Ø, Seifert H, Woodford N, Nordmann P; European Network on Carbapenemases. Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. Clin Microbiol Infect. 2012 May; 18(5): 413-31.
13. Suzuki S, Shibata N, Yamane K, Wachino J, Ito K, Arakawa Y. Change in the prevalence of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. J Antimicrob Chemother. 2009 Jan; 63(1): 72-9.
14. Doi Y, Shibata N, Shibayama K, Kamachi K, Kurokawa H, Yokoyama K, Yagi T, Arakawa Y. Characterization of a novel plasmid-mediated cephalosporinase (CMY-9) and its genetic environment in an *Escherichia coli* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother. 2002 Aug; 46(8): 2427-34.
15. Yagi T, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Doi Y, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Arakawa Y. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C β -lactamase-

- producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. J Clin Microbiol. 2005 Jun; 43(6): 2551-8.
16. Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, Macielag M, Abbanat D, Park CH, Bush K, Hooper DC. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. Nat Med. 2006 Jan; 12(1): 83-8.
 17. Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Konda T, Arakawa Y. New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Sep; 51(9): 3354-60.
 18. Deng Y, Zeng Z, Chen S, He L, Liu Y, Wu C, Chen Z, Yao Q, Hou J, Yang T, Liu JH. Dissemination of IncFII plasmids carrying *rmtB* and *qepA* in *Escherichia coli* from pigs, farm workers and the environment. Clin Microbiol Infect. 2011 Nov; 17(11): 1740-5.
 19. Wachino J, Arakawa Y. Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: An update. Drug Resist Updat. 2012 Jun; 15(3): 133-48.

新型の多剤耐性グラム陰性桿菌の特徴と主な薬剤耐性機構

耐性菌の種類	主な耐性機構	疫学的特徴	細菌学的な特徴
多剤耐性 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	FQ 耐性：GyrA/ ParC の QRDR 領域のアミノ酸置換や MexAB-OprM などの排出機構 AG 耐性：AG 修飾酵素の産生 カルバペネム 耐性：IMP や VIM 等の MBL の産生 D2ポアーリンの欠失	汚物室等の水まわり、蓄尿 / 尿量測定装置などの汚染による院内拡散が發生しやすい。	• MBL 産生型は国内で認可されているほぼ全ての注射剤に耐性を示す。 • MLST 型別により ST235と判定される株がわが国や韓国の医療環境で伝播拡散しやすい。 • IMP-6を産生する株は、IPM より MEPM の MIC 値が高くなる傾向がある。
多剤耐性 <i>Acinetobacter</i>	FQ 耐性：GyrA/ParC の QRDR 領域のアミノ酸置換や排出機構 AG 耐性：AG 修飾酵素の産生 カルバペネム耐性：OXA 型カルバペネマーゼの産生 MBL の産生 外膜蛋白の変化	生息場所は緑膿菌に似るが、より乾燥に耐える。	• 医療機関内で流行しやすい菌種は、<i>A. baumannii</i> であり、特に CC92や CC109が広がりやすい。 • MBL 産生株は、OXA- 型カルバペネマーゼ産生株より高いカルバペネム耐性を示す。
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	FQ 耐性：同上 AG 耐性：同上 カルバペネム耐性：NDM- 型 MBL の産生 外膜蛋白の変化	NDM-1産生株は、インド／パキスタン地域では環境中にも存在	• CMY- 型のセファロスポリン／セファマイシン分解酵素や CTX-M- 型 ESBL を同時に産生する。 • ArmA, RmtB, あるいは RmtC を同時に産生する株が多い。 • NDM-1産生株には ST14や ST147などが多い。
	FQ 耐性：同上 AG 耐性：同上 カルバペネム耐性：KPC- 型カルバペネマーゼの産生 外膜蛋白の変化	KPC- 型カルバペネマーゼ産生株は、中国沿岸部（杭州、上海など）にもホットスポットが存在	• 各種の多剤耐性遺伝子を同時に保有しており、多剤耐性を示す傾向が強い。 • ピペラシリン／タゾバクタムに耐性を示す。 • インドでは新生児や小児の敗血症からもしばしば分離される。 • ST258が世界中に拡散中
	FQ 耐性：同上 AG 耐性：同上 カルバペネム耐性：OXA-48カルバペネマーゼの産生 外膜蛋白の変化	OXA-48型カルバペネマーゼ産生株は、ヨーロッパに蔓延中	• 感染症を発症すると死亡率が高い？ • CTX-M-15などを同時に産生する株がある。

耐性菌の種類	主な耐性機構	疫学的特徴	細菌学的な特徴
<i>Escherichia coli</i>	FQ 耐性： GyrA/ParC の QRDR 領域のアミノ酸置換や排出機構 Plasmid 媒介性の QepA の産生（稀） AG 耐性： AAC, APH, AAD 等修飾不活化酵素の産生 16S rRNA メチル化酵素の産生（稀） カルバペネム耐性： IMP-, VIM-, NDM- 型 MBL の産生 外膜蛋白の変化 CTX/CTXR 耐性： CTX-M-15や CTX-M-14 セファマイシン耐性： CMY- 型、DHA- 型 β - ラクタマーゼの産生 外膜蛋白の変化	- CTX-M-15は 欧 米、CTA-M-9/-14は、アジア地域に比較的多く分布 - CTX-M 型 ESBL 産生大腸菌は、鶏肉などからもしばしば分離されており、また、医療機関受診歴の無い尿路感染症の患者からも検出される。	- CTX-M-1グループの CTX-M-15や CTX-M-55産生株は、CAZ にも耐性を示す。 - CTX-M-9グループの CTX-M-27産生株も、CAZ にも耐性を示す。 - CTC-M-2グループの CTX-M-35産生株も、CAZ にも耐性を示す。 - 中国では、CTX-M- 型 ESBL、QepA、QnrA、AAC(6)-Ib-cr、RmtB/RmtA などと同時に複数産生する株も出現 - O25:H7-ST-131、O25b:H7-ST131株は、FQ 耐性を獲得し CTX-M- 型 ESBL を産生し、世界的に蔓延しつつあり、global epidemic strain とも呼ばれている。 - NDM-1産生株としては、ST101など - イヌ等のペットからもCTX 耐性株が分離される。
<i>Salmonella spp.</i>	CTX/CTXR 耐性： CTX-M-15や CTX-M-14 セファマイシン耐性： CMY- 型 β - ラクタマーゼの産生	インド等で NDM-1産生株が出現している。	NDM-1産生株の中には16S rRNA メチル化酵素（ArmA）を産生する株も見られる。
<i>Shigella spp.</i>	CTX/CTXR 耐性： CTX-M-64を産生する株の出現	中国では、CTX-M-64を産生する大腸菌なども確認されている。	CTX-M-64は CTX-M-1と CTX-M-9グループのハイブリッドであるため、一般的に用いられている PCR で検出できないことがある。

院内感染症制御のための監視システム

東海大学医学部基礎医学系生体防御学

教授 藤 本 修 平

■ 内容

1. はじめに	42
2. 薬剤耐性菌による感染症制御に何が必要か	43
a. 選択圧の除去	43
b. より厳密な「感染対策」	44
3. 施設レベルでの対策と地域、国、地球レベルでの対策	44
4. 菌の院内拡散と耐性菌の拡散・院内感染症	44
5. 菌の院内拡散を見える化する技術	45
a. 2項分布による「菌の異常集積の自動検出」	45
b. 菌の異常集積警告スコア累積 (Σ -alert)	46
c. 菌の異常集積警告スコア累積マトリクス (Σ -alert matrix)	48
d. アンチバイオグラムの自動分類と2次元キャリアマップ (2DCM)	49
6. 感染症制御のための監視システム	52
a. 地方・国レベルでの監視システム	52
i. 感染症法に基づいた監視システム	52
ii. 感染症法に基づかない国の監視システム (JANIS)	53
iii. 学会などによる監視システム	54
b. 施設レベルでの監視システム	54
i. 菌の院内拡散を検出するアルゴリズムを持ったシステム	54
ii. 細菌検査システムの発展型	55
c. 複数施設を監視するシステム	55
7. 院内感染症対策の問題点と「院内感染症制御のための監視システム」の将来	56
参考文献	57

1. はじめに

抗菌薬による細菌感染のコントロールは高度先進医療発展の重要な基盤である。高度先進医療は、カテーテル挿入などの医療行為によって生体防御能の障害を生む。高度先進医療の進歩は生体防御能に障害を持つ易感染患者の数を増やした。

易感染患者は、病原性の低い、非病原菌（弱毒菌）による日和見感染症を発症する。日和見感染症の原因となるのは、身近にある非病原菌である常在菌や環境菌であり、これらの菌は、抗菌

薬が多用される病院内に長時間存在し、起因菌の治療、予防のための抗菌薬の投与のたびに抗菌薬に暴露される。さらに、起因菌とは異なり、免疫機能によって排除されることがないため、抗菌薬投与のたびに、耐性菌の選択だけが発生する。このため、日和見感染菌には耐性菌が多く、難治感染症となる。

抗菌薬が支えてきた高度先進医療が抗菌薬の効かない耐性菌増加の原因になるという皮肉な構造となっている。

このような問題がある中で、高度先進医療の発展、安全な実施を継続するために、薬剤耐性菌による感染症の抑制が不可欠である。

筆者らは、薬剤耐性菌による感染症制御に、抗菌薬による選択圧の除去と院内感染症の制御が必要だと考えて、主に、後者を支援するために電子化システム（コンピュータを用いた感染症対策システム）の開発、普及を行ってきた。本稿では薬剤耐性菌が原因となっている感染症の制御について概観するとともに、筆者らが開発してきた電算化手法、システムについて説明する。

2. 薬剤耐性菌による感染症制御に何が必要か

筆者らは、薬剤耐性菌による感染症の抑制には、科学的根拠にもとづいた、（ア）選択圧の除去による耐性菌選択の回避、および、（イ）より厳密な高精度の感染対策による院内感染症の抑止が必要であると考え⁽¹³⁾、電子化サーベイランス、電子化システムの開発^(12,13,15)を行ってきた。

2011年のWHO World Health Dayのテーマはdrug resistanceであり、そのスローガンは“COMBAT DRUG RESISTANCE: No action today, no cure tomorrow”であった（<http://www.who.int/world-health-day/2011/en/index.html>）。WHOは、World Health Dayのテーマをdrug resistanceとしたとアナウンスした文書（http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2010/amr_20100820/en/index.html）の中で、各国政府に対して、1）surveillance for antimicrobial resistance（薬剤耐性のサーベイランス）；2）rational antibiotic use, including education of healthcare workers and the public in the appropriate use of antibiotics（医療保健分野／一般市民両レベルでの抗生物質の適正使用）；3）introducing or enforcing legislation related to stopping the selling of antibiotics without prescription（処方無しでの抗生剤販売の禁止のための法整備）；and 4）strict adherence to infection prevention and control measures, including the use of hand-washing measures, particularly in healthcare facilities（手洗いを含む感染予防、及び対策手技の遵守（特に医療保健分野）。）の4点を挙げている。3）については、日本では達成できているので、他の3点を考慮することになるが、これらは、筆者らが、薬剤耐性菌の抑制に必要な方法と考えていた点に包含される。

科学的データにもとづいた、（ア）選択圧の除去（イ）より厳密な「感染対策」について、概観する。

a. 選択圧の除去

抗菌薬の適正使用によって選択圧の軽減を図ることがその方法と考える。医療機関レベルと、社会全体（一般市民レベル）での選択圧の軽減が重要である。医療機関レベルでは、antimicrobial stewardshipが広く受け入れられるようになっており^(7,14,16,20,32,33)。一方、社会全体

での選択圧の軽減については、日本国内では十分な取り組みが行われていない。米国では、2003年頃より、CDCによるGet Smart (<http://www.cdc.gov/getsmart/>) の試みが行われており、医療機関（医療従事者）向けの抗菌薬適正使用と同時に市民に対する働きかけもマスメディア、インターネット経由で行われている。今後、日本でも考慮すべき方法である。

b. より厳密な「感染対策」

感染対策の基本手技として手洗いが重要であり、一方、その徹底も困難であることから、手指衛生は感染対策の要として繰り返し遵守が呼びかけられている⁽²¹⁾。血管内カテーテル関連感染症に対する対策⁽²⁹⁾、尿路カテーテル関連感染症に対する対策⁽²⁶⁾なども、重点的に進められており、同時に、科学的根拠の積み重ねも進められている。接触感染を主な感染経路とする院内感染症全般については、手洗い以外の積極的な対策は必ずしも十分でない。筆者らは、菌の院内拡散に注目してこの分野での感染対策の強化を試みている。

3. 施設レベルでの対策と地域、国、地球レベルでの対策

耐性菌の選択は医療分野にとどまらないため、耐性菌による感染症制御は、地球レベルで環境を含めて行う必要がある^(9,19)。施設レベルでの感染対策、抗菌薬適正使用とともに、地域、国レベルでの感染対策、抗菌薬適正使用、さらに、家畜、農産物への抗菌薬の適正使用も同時に進めて行く必要がある。全国レベルでの耐性菌監視システムとして厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）^(15,25)、(<http://www.nih-janis.jp/>) が運営されている。バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）などについては、地域での拡散が問題となることがあるが、現在、JANISの参加は原則200床以上の医療機関に限定されているため、VREなどについて必ずしも十分な情報が得られていない⁽³⁴⁾。動物からの分離菌、動物薬を含めた総合的な抗菌薬による選択圧の軽減、農作物への抗菌薬使用に対する対策も必要である⁽²⁷⁾。

4. 菌の院内拡散と耐性菌の拡散・院内感染症

今日、院内感染症のほとんどは日和見感染症であり、その起因菌は、常在菌や環境菌である。しかし、本来、非病原菌（弱毒菌）である常在菌や環境菌が分離されても、異常とはいえない。常在菌や環境菌であっても、1）本来無菌的な材料（例：髄液、血液）から分離された場合、2）分離されることがまれな耐性菌（例：VRE, MDRP）が分離された場合は、異常と考えてきた。

筆者らは、菌が一人の患者から別の患者に広がる、菌の院内拡散がある場合、1）菌の院内拡散は不適切な院内感染対策手技を反映しており院内感染アウトブレイクの危険因子である、2）菌の院内拡散は外因性院内感染症（exogenous nosocomial infection）の最初のステップである、3）菌の院内拡散は耐性菌の院内拡散に必須のステップであり抗菌薬による選択圧とともに重要な因子である。4）菌の院内拡散は、内因性院内感染症（endogenous nosocomial infection）においても、その原因が入院後に常在細菌叢に加わった耐性菌であった場合、難治化に重要な役割を果たすことに注目した。

しかし、菌自体は目に見えないため、菌の院内拡散を問題とするためには菌の院内拡散を可視化（見える化）する技術が必要となった。

5. 菌の院内拡散を見える化する技術

菌の院内拡散を可視化するためには、菌を監視培養し、分離された菌を同定後、分子疫学的方法などによって菌株の異同を調べ、その、時間的、空間的分布を調べることによって実現できる。しかし、分子疫学的解析には時間と費用が必要である⁽¹⁰⁾。一方、細菌検査の結果に含まれる菌の同定結果、薬剤感受性検査結果を利用することができればこれらは、臨床検査の結果として既存の資料であり、資料の準備には費用がかからない。

筆者らは、JANIS サーベイランス、SHIPL システム^(15,22)の開発を通じ、細菌検査情報データの標準化を行い、JANIS サーベイランス提出データ、SHIPL システムへの送信データが、検査システム、検査システムに接続されたデータ管理装置、病院情報システム、外注検査会社システムなどから自動的に生成される仕組みの普及を促してきた。現在、JANIS 検査部門に参加している施設、SHIPL にデータ送信をしている施設はすべてこの仕組みを採用している。

このような、データの自動送信を利用して、菌の院内拡散を可視化するためのそれぞれの方法について述べる。

a. 2 項分布による「菌の異常集積の自動検出」

「菌の異常集積の自動検出」⁽¹⁸⁾は、菌が、人為的に偏りが無く、全く偶然だけによって分離されたという帰無仮説のもとに、分離菌の baseline rate、検査対象患者数、菌陽性患者数から、2 項分布を用いてその確率をノンパラメトリックに算出し、その確率が小さい場合、仮説に誤りがあった、つまり、菌の院内拡散などの人的介入があったと判断するものである（図 1）。図 1 の例では確率が非常に小さいため、最も高い警告レベルである“LEVEL 3”が警告として出ている。警告レベルは、設定可能であるが、default では 1/100 以下を LEVEL 1, 500/1 以下を LEVEL 2, 1/1000 以下を LEVEL 3 としている。

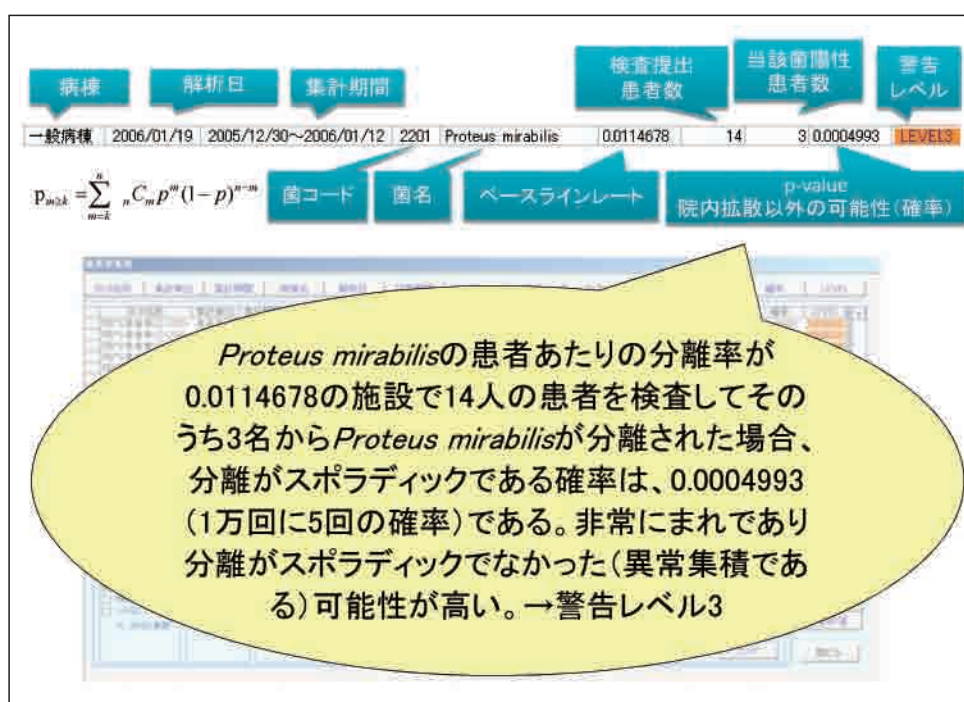


図 1 菌の異常集積の自動検出

計算自体は、非常に簡単であるが、実用的に運用しようとする、1) すべての菌種について、2) すべての病棟において、3) 7日、14日、28日などの異なった集計期間で毎日集計を行う必要があり、データが自動的に収集される仕組み、計算を自動的に行う仕組みが必要になる。しかし、一旦、システムが稼働すれば、毎日、すべての菌種について、異常集積（菌の院内拡散）を自動検出することが可能になり、院内感染対策の精度が格段に向上する。

この方法で異常とされた菌の異常集積について分子疫学的解析などによって検証を行ったところ、同一株の集積が高い確率で見つかった。

b. 菌の異常集積警告スコア累積（ Σ -alert）

「菌の異常集積の自動検出」による菌の院内拡散によって院内感染アウトブレイクが未然に検出できる可能性を調べるために、長期間の警告をグラフとして表現する方法を考えた。警告レベルのレベル値、LEVEL 1, LEVEL 2, LEVEL 3をそれぞれ1,2,3として指標化し、これを月ごとに累積したものを棒グラフで表し、菌の異常集積警告スコア累積（ Σ -alert）と名付けた（図2）。

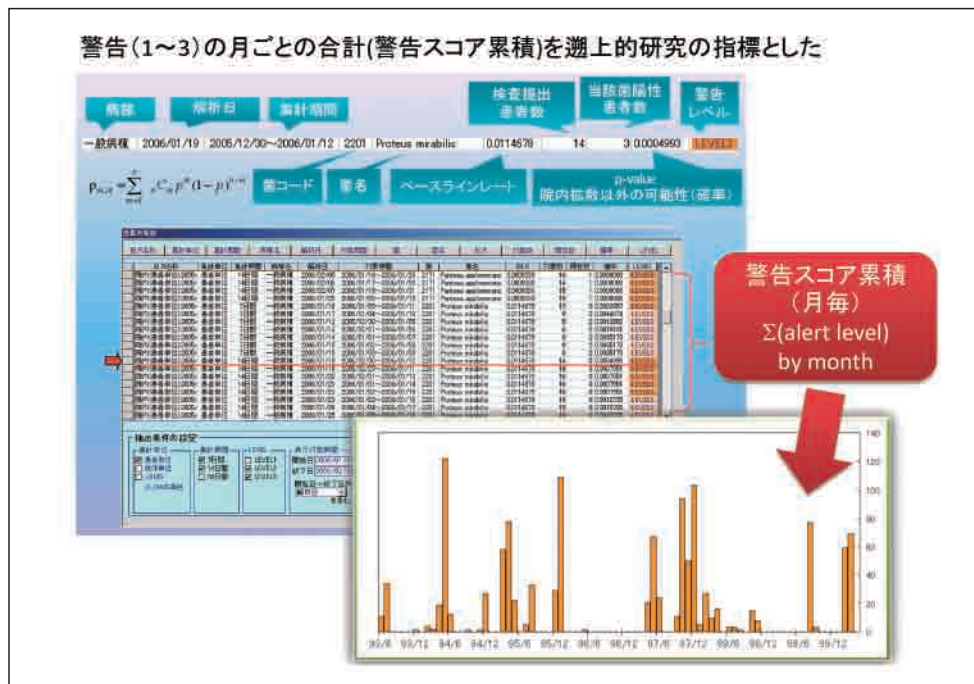


図2 菌の異常集積警告スコア累積（ Σ -alert）

セラチアによる院内感染アウトブレイクを経験した施設からアウトブレイクの6年前からアウトブレイク後7ヶ月の検査データ約6万件の提供を受けた。全データを菌の異常集積の自動検出、菌の異常集積警告スコア累積（ Σ -alert）の処理が行える SHIPL システムに移植した。アウトブレイクの6年前からシステムが稼働していた場合にどのように警告が出たかを、システムを擬似運転して確認した（図3）。

システムは、アウトブレイクのあった時期（1999年7月末、図3 下向き赤矢印）に異常集積を示す警告が多く発生したことを示しているが、それ以前から、半年ないし1年に一度、同様の警告が発生している（菌の異常集積があった）ことを示しており、セラチアの院内拡散を一定時期ごとに繰り返していたことが疑われた。警告スコア累積は月あたり100程度であり、警告がすべてレベル3であったとした場合1ヶ月に30回以上、すべてレベル2であったとした場合1ヶ月に

50回の警告が発生したことを示している。一方、それ以外の時期には、全く警告が出ない状態が数ヶ月にわたって続いていることから、システムから警告が出れば、異常であることを十分に認識できる状態であったと考えた。

この施設の、他の菌種についても同様の集計を行った（図4）。1994年から1995年にかけてMRSAや*Pseudomonas aeruginosa*（緑膿菌）の異常集積も多く見られているが、集計後半1997年頃からは、これらの菌の異常集積はほとんど無くなっている。

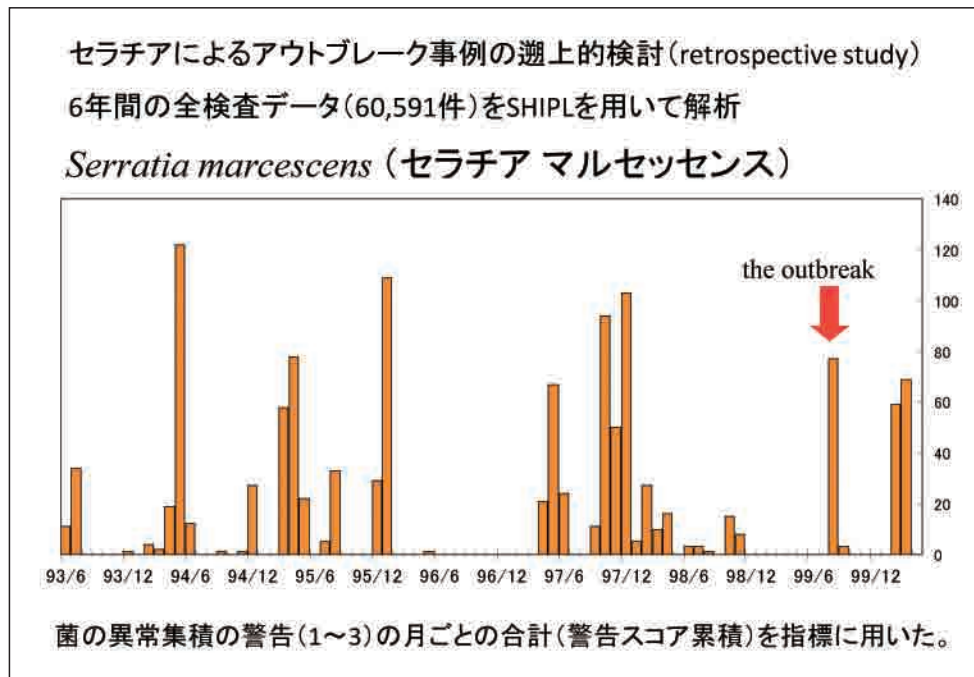


図3 菌の異常集積警告スコア累積 (Σ -alert)

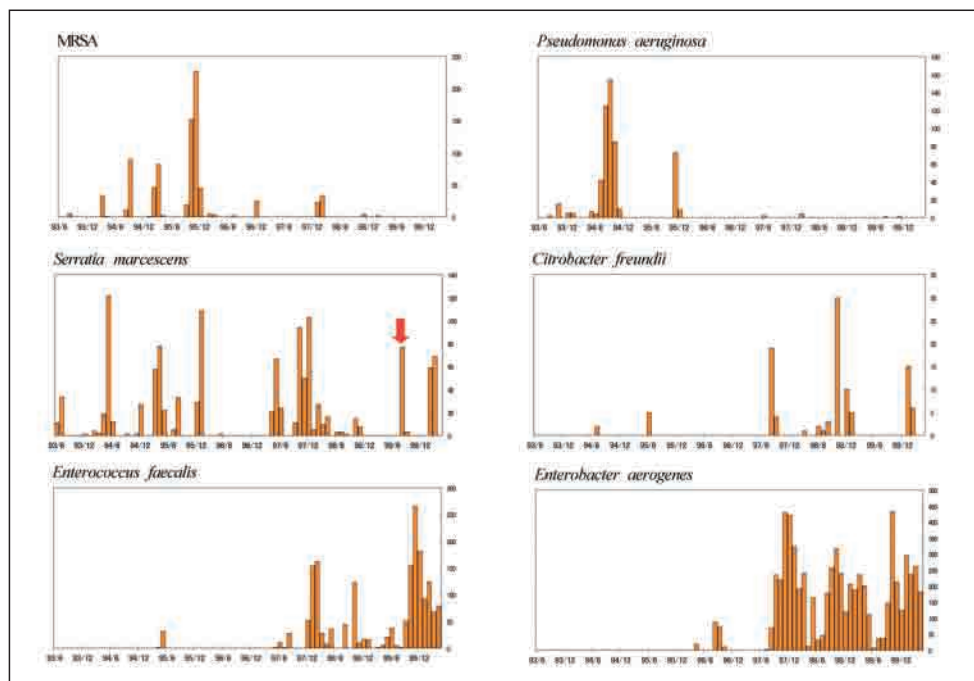


図4 セラチアアウトブレイク経験施設の警告スコア累積 (Σ -alert)

この施設は、1990年代に院内感染の原因として重要であると考えられていた、MRSA や緑膿菌に対しては注意を払い、その院内拡散にも対策を行っていたが、当時、あまり問題とされていなかった、その他の菌については十分な配慮を怠っていたと考えた。従って、この施設に「菌の異常集積の自動検出」が稼働するシステムが導入されていれば、セラチアの異常集積に気がつき、セラチアによるアウトブレイクを未然に防ぐことができたと考えた。

当該の施設では、集計期間後半になって、*Citrobacter freundii*、*Enterococcus faecalis*、*Enterobacter aerogenes* などが異常集積を繰り返すようになっており、これらの菌が院内拡散を繰り返していると考えた（図4）。これらの菌によるアウトブレイクは発生していなかったが、アウトブレイクの原因になる可能性が高いと考えた。これらの菌は、いずれも、便から多く検出される菌種であり、便を原因として院内拡散を繰り返していることが疑われた。便の関与する、おむつ交換、汚物の処理などに拡散の原因を求め、対策をすることが合理的と考えた。

c. 菌の異常集積警告スコア累積マトリクス（Σ-alert matrix）

菌の異常集積警告スコアを用い、院内拡散を繰り返している菌（複数）を検出し、それらの菌に共通する特徴を見いだせば、院内拡散の原因になっている問題を抽出できると考えた。共通する特徴（因子）として、“chain of infection”^(3,4)（「感染の6要素」）にある“感染源（reservoir）”、“排泄門戸（portal of exit）”、“感染経路（mode of transmission）”、“侵入門戸（portal of entry）”、“感受性個体（被感染者）（susceptible host）”を候補として、病原体（菌）（causative agent）とこれらの因子のデータベースを作成し、菌ごとにこれらの因子の要素（感染源であれば、便、尿、喀痰、血液など）のスコアを求め、それぞれの因子の要素ごとのスコアを集計することで、それぞれの因子の中で、院内拡散をしている菌に共通の要素を導くことができる。これによって、当該の施設の院内感染対策の問題点を抽出することができる（図5）。

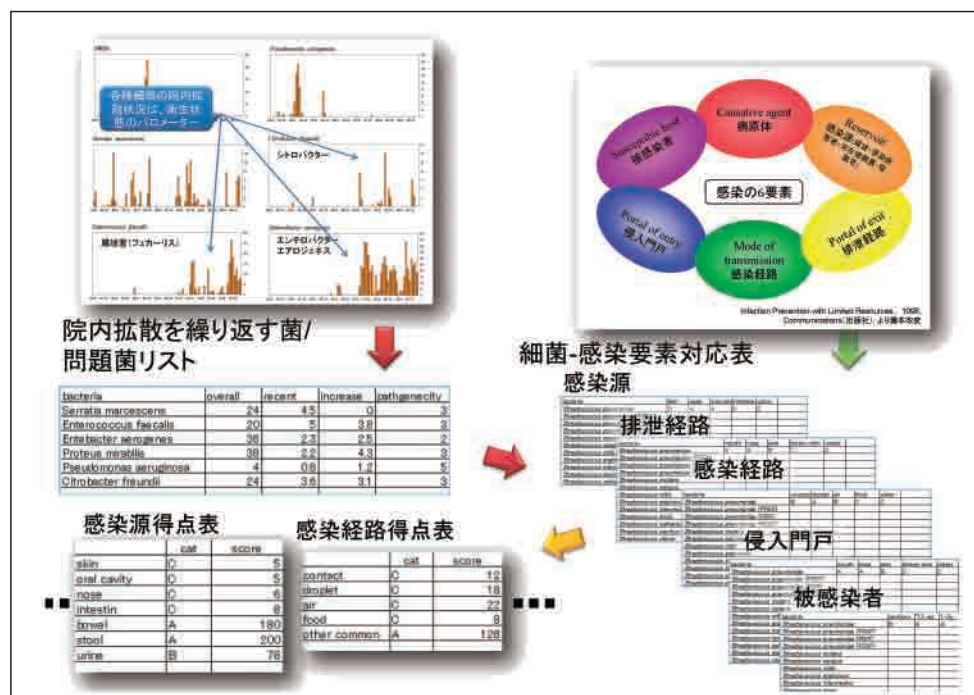


図5 感染対策の問題点を明らかにするアルゴリズム

しかし、このような抽象化の進んだシステムからの出力は、利用者に問題の内容を十分に伝えることができないこと、「感染の6要素」に関する情報の整理が行われている菌は数が少ないことから、現時点ではむしろ、すべての分離菌種について、菌の異常集積警告スコア累積をわかりやすく見せる方法が必要であると考えた。

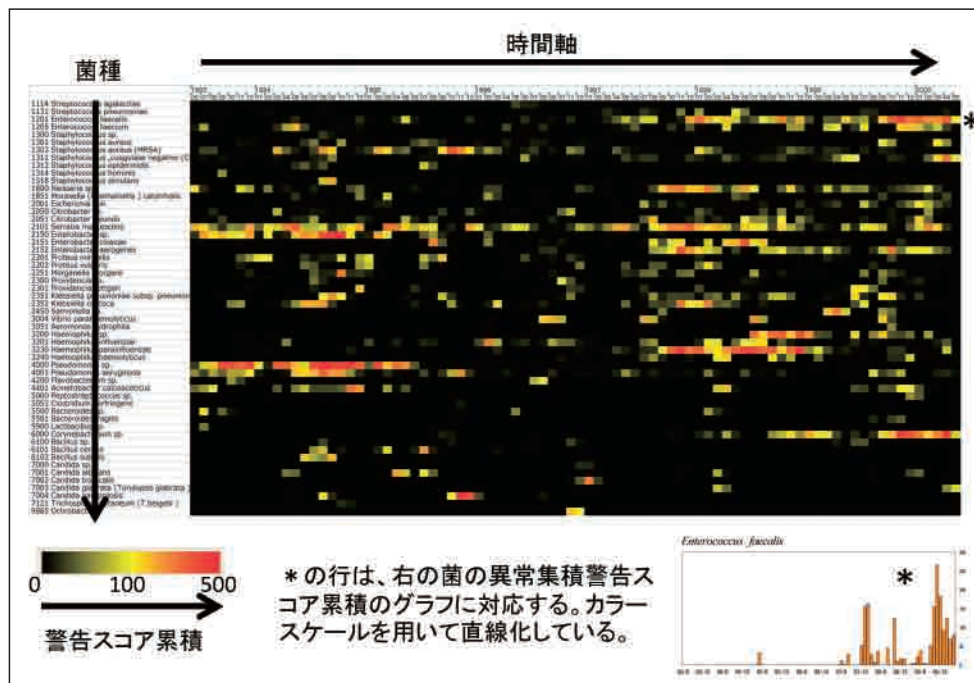


図6 菌の異常集積警告スコア累積マトリクス (Σ-alert matrix)

菌の異常集積警告スコア累積マトリクス (Σ-alert matrix) は、縦軸に各種菌種、横軸に時間を取り、菌の異常集積警告スコア累積 (Σ-alert) の棒グラフの高さをカラースケールに置き換えて、グラフ一枚を一本の直線として表現するもので、数十菌種の数年にわたる異常集積の状況を一枚の図 (マトリクス) で把握することができる。

この方法により、施設において、問題となる菌種の把握が可能となるだけでなく、その施設の感染対策の全般的評価も可能となることが分かってきている。

d. アンチバイオグラムの自動分類と2次元キャリアマップ (2DCM)

菌の院内拡散を可視化することは、耐性菌による日和見感染症の抑制を行う上で重要である。菌の異常集積は、菌の院内拡散の存在を可視化するが、感染経路 (route of transmission) を可視化することはできない。route of transmission を可視化するためには、同じ菌種として同定された菌をさらに同じ菌株であるか同定しその結果を患者の導線とともに図示 (mapping) することが必要である。

現在、分子疫学的方法が菌株の同定の gold standard であるが、費用、時間などの問題がある⁽¹⁰⁾。抗菌薬による感受性試験の結果 (antibiogram) も菌株の同定に用いられる。分子疫学的方法に較べると分解能が劣るが、院内拡散と菌の持ち込みを見分けるためには有用である^(6,10)。

細菌は二分裂で増殖し、短期間に変異を生じる確率が非常に低いが、一方で、長期間 (年単位) では、接合伝達、組み換え、突然変異などによって様々な形質を示す。antibiogram による菌株の同定は、これを利用しており、同一株の院内拡散では、同じ感受性パターンの菌株が広が

るのに対し、市中には、様々な耐性パターンを示す菌株が流通しているため、これらの持ち込みでは各株各様の感受性パターンを示す。これによって菌の院内拡散と菌の持ち込みを見分けることができる。

VRE のアウトブレイクなど、アウトブレイクがあった事例では、分子疫学的方法と antibiogram はよく一致し⁽¹⁷⁾、地域レベルでの分類でも antibiogram が参考になることが示されている⁽²⁴⁾。

これらの観点から、日常の臨床検査の結果を用いた、antibiogram による疫学的な検討は、追加の費用がかからない点、迅速性から有用である^(2,6,10)ことが分かっている。

CLSI による SIR（感性、中間、耐性）の判断では、S と I、I と R の MIC の違いは 2 倍であり⁽³⁰⁾、細菌検査の誤差範囲である。このため、I は独立したカテゴリーとはなり得ず、I と判定された場合は、S であるかもしれないし、R であるかもしれないという判断をする必要が生じる。広い範囲で MIC を測定してある場合は、MIC 自体を用いてグループ分けを行うことも可能であるが、ディスク拡散法のための測定、ブレイクポイント周辺のみの MIC 測定が主に行われており、MIC の利用は、I に対応する MIC の範囲が広い一部の薬剤でのみ、メリットがあるのが現状である。

臨床検査では常に同じ抗菌薬によって感受性試験が行われるわけではなく、検査が行われてない薬剤も存在する。検査が行われてない薬剤の検査結果は、検査を行っていけば S であったかもしれないし、R であったかもしれないことになり、I と同様の扱いとなる。これらの問題が、アンチバイオグラムによる、菌株の同定（分類）を非常に複雑にする（図 7）。図 7 は、5 菌株、3 薬剤の比較的単純な例であるが、複数のグループに含めなくてはならない菌株が 2 株存在する。実際の検査結果はこれよりも遙かに複雑で、用手で、論理的に分類を行うことは殆ど不可能に近い。

筆者らは、これを自動的に処理するアルゴリズムを開発した。さらに、検査結果の基本情報で

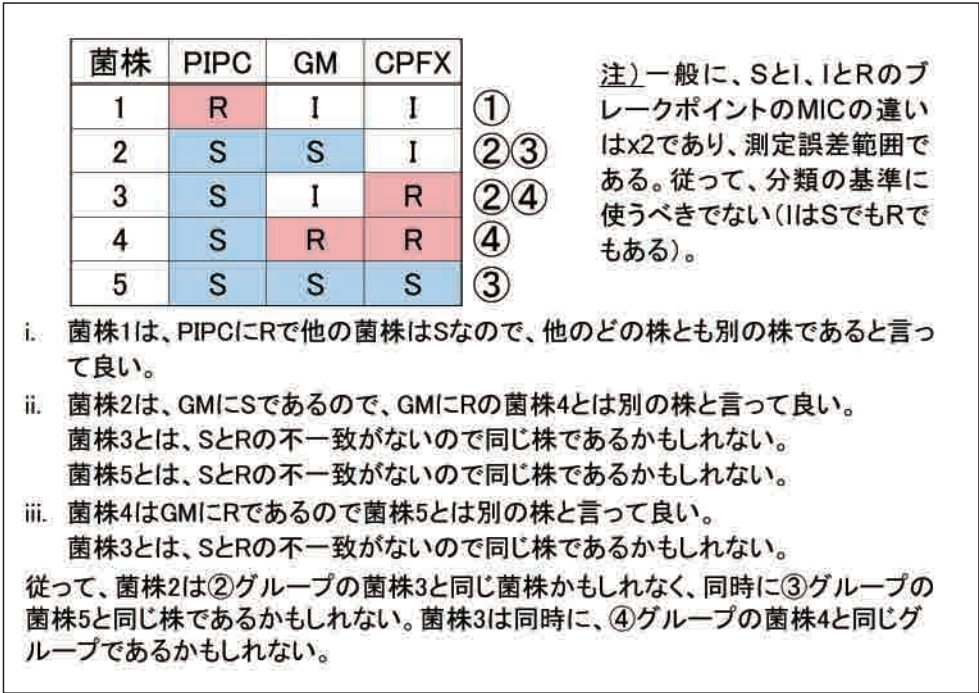


図 7 antibiogram の整理においてグループ分けが一意に決まらない例

ある患者 ID、病棟、診療科、検査材料などの情報を 2 次元マップ上にその菌株の antibiogram の分類グループの番号とその番号に振り当てたカラーコードとともにマップし、同一患者からの検体を直線で結ぶことによって、患者動線も表示するアルゴリズム “アンチバイオグラムの自動分類と 2 次元キャリアマップ (2DCM)” を開発した⁽³¹⁾ (図 8)。

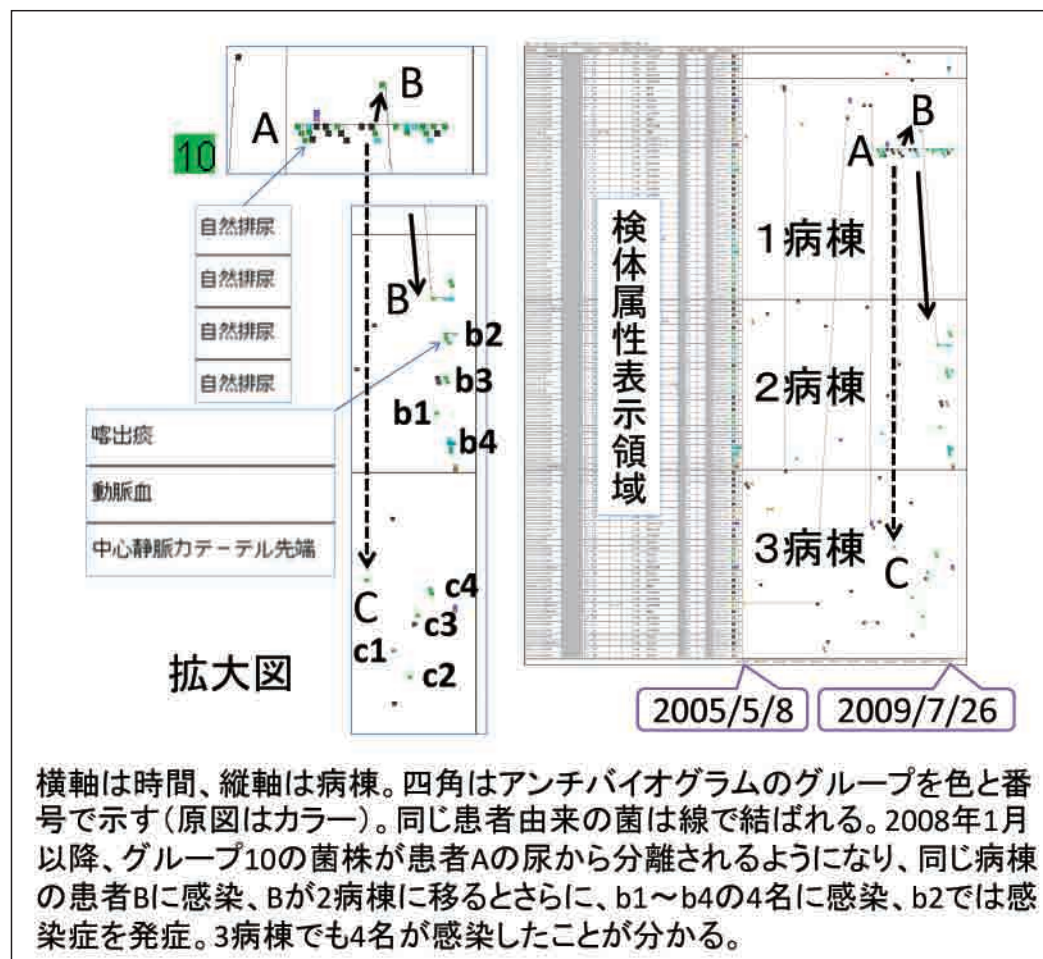


図 8 2DCM; *Proteus mirabilis* 4 年間の解析

2DCM の横軸は時間軸で、縦軸は場所（病棟あるいは診療科など）を示す。2DCM 上の小さな四角は一つの分離株に対応する。これらの四角には antibiogram のグループの番号が付され、その番号に対応するカラーコードが四角の色となる。同じ患者からの検体は直線で結ばれるが、同じ病棟にいる間は四角は水平に配置され、同じ患者の検体であることが分かるようになっている。四角の間隔が詰まっている場合は、上下にずらし、水平の線を基線として垂線で四角を結び、同じ患者の検体であることを示す。他の病棟に移った場合は、斜めの線で病棟の仕切りを越えて結ばれるが、元の病棟に戻れば、元の高さに配置される。

複数の antibiogram のグループに含まれる検体は、一つの検体に対して密着した複数の四角を与える。別の検体の場合は、必ず、離れるように配置し、区別が付くようにしている (図 9)。

2DCM により、菌の院内拡散が可視化できるようになったが、利用が進む中で、2DCM の結果と、引き続いて行ったパルスフィールド電気泳動 (PFGE) などの分子疫学的方法による分類が一致しない例が出てきた。antibiogram のような表現型による分類は、分子疫学的方法のような遺伝子型による分類に較べて分解能が低いことは一般的であるが、antibiogram で異なるグルー

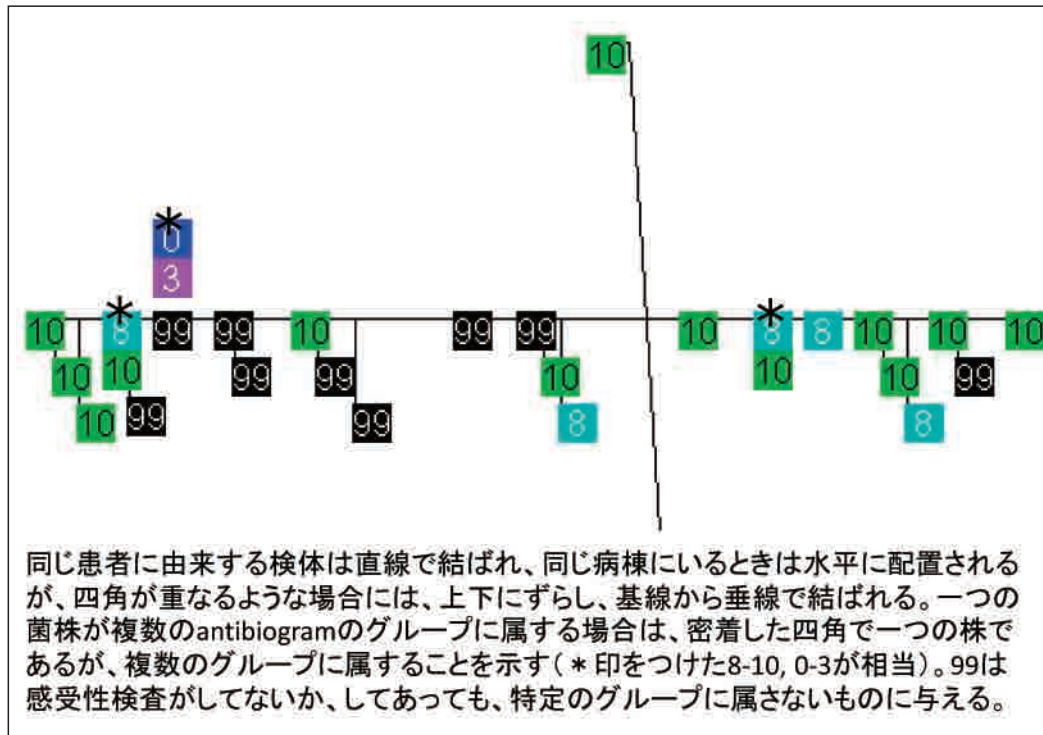


図9 2DCMのマッピングの詳細

プに属するものが、はるかに分解能の高い分子疫学的方法によって同じ遺伝型となることは、希で、一般的には考えづらい。

このような株について、感受性検査、分子疫学的方法による分類の再検査を行ったところ、これらでは、感受性検査の結果に誤りがあったことが分かった。

さらに、系統的に、無作為に、2DCMによる解析と、分子疫学的解析を行ったところ、数十株に1株程度の感受性検査の誤りが、複数の医療機関、検査機関の検査結果に含まれることが分かった。検査の精度を上げることは、2DCMによる解析の精度を上げる上でも重要であるが、一方で、2DCMのような詳細な解析によって、このような問題も表在化したといえる。

これまで、antibiogramによる分類結果と、分子疫学的方法の結果の一致率については、複数の議論がある⁽¹⁰⁾。SIRのIなどの扱いについても問題があったと考えるが、アウトブレイクが無い場合、市中には驚くほど様々な菌株が流通しており、これらについて議論すると分子疫学的方法とantibiogramの一致率は低くなる。これまでの研究で、1) 菌の時間的、空間的異常集積があった場合、2) VRE、MDRPなど特殊な耐性菌が分離された場合、3) MRSAなど高度な耐性菌の時間的、空間的集積が見られた場合、4) reservoirとなる繰り返し同じ菌が分離される患者が存在する場合などにおいて、antibiogramによる分類、2DCMの信頼度が上がることが分かってきた。

6. 感染症制御のための監視システム

a. 地方・国レベルでの監視システム

i. 感染症法に基づいた監視システム

感染症法に基づいて、感染症発生動向調査事業として行われている。医師、獣医師からの届け出が所轄の保健所に行われる。保健所からの情報は、地方衛生研究所などの中に置かれた地方感

感染症情報センターからコンピューターシステム（NESID）によって国立感染症研究所におかれた中央感染症情報センターに集まる。中央感染症情報センターは IDWR などの週報、月報を作成し、さらに、情報の分析、評価を行う。

地方レベルでは、地方感染症情報センター、及び、都道府県、保健所を設置する市、特別区などの間で設けられる基幹地方感染症情報センターにおいても、各地域の情報の集計を週報、月報などの形で行い、また、情報の分析、評価を行っている。地方財政の悪化とともに、地方衛生研究所の機能低下が問題となっており⁽¹⁾、今後どのように維持されるか問題である。

病原体についても、各地方衛生研究所において検査が行われ、地方衛生研究所で検査を行うことが困難なものについては、国立感染症研究所に検査を依頼して検査が行われる。

地方衛生研究所、検疫所からの病原体検出報告は IASR⁽²³⁾ として公表されている。

ii. 感染症法に基づかない国の監視システム（JANIS）

厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）は、平成12年（2000年）より、わが国における薬剤耐性菌の分離状況と薬剤耐性菌による感染症の発生状況、および、院内感染の発生状況に関する情報提供を目的として実施されている⁽²⁸⁾。検査部門、全入院患者部門、ICU 部門、SSI 部門、NICU 部門の5部門からなっている。

JANIS には、2012年2月現在で1000施設が参加している。このうち検査部門には734施設が、全入院部門には528施設が参加しており、以下、ICU 部門、SSI 部門、NICU 部門、各158, 414, 98施設となっている。

検査部門の700施設は200床以上の医療機関の20%であり、500床以上に限ると全医療機関の40%が検査部門サーベイランスに参加している。

各部門ともデータの提出は安全を確保したインターネット接続で行っている。データの作成については検査部門で標準化、自動化が高度に進んでいる。標準化を進めたため、日本国内で販売されている、殆どすべての自動細菌検査機器、検査機器に接続して用いるデータ管理装置、病院情報システムが、JANIS 検査部門の提出データを自動的に作成できるようになっており、参加医療機関は日常の細菌検査業務を行うだけで、サーベイランス提出データの作成が完了する。

現行では、月一度、このデータをインターネット経由で厚生労働省に送る。培養陰性を含むすべての細菌検査結果が、暗号化された患者 ID、診療科、病棟、検査材料などの基本的な情報とともに送られる。

厚生労働省では自動的に解析を行い、48時間以内に解析結果を箱ひげ図、グラフなどを含む分かりやすい情報として PDF ファイルで回収できるように準備する。参加施設は PDF ファイルを安全を確保したインターネット接続で回収する。

JANIS 検査部門は、参加施設数（規模）、自動化、標準化などにおいて、世界に類例を見ない、大規模、高度自動化、高精度のサーベイランスシステムである。

JANIS 検査部門では平成24年4月から、2DCM を web アプリケーション化した2DCM-web のサービスを開始した。JANIS 検査部門参加施設は、2DCM のすべての機能を利用して、JANIS に提出した自施設データから菌の院内拡散を可視化することができるようになった。JANIS 検査部門参加の約700施設が利用できるが、現在までに313施設が利用し、毎月130回程度の起動がある。

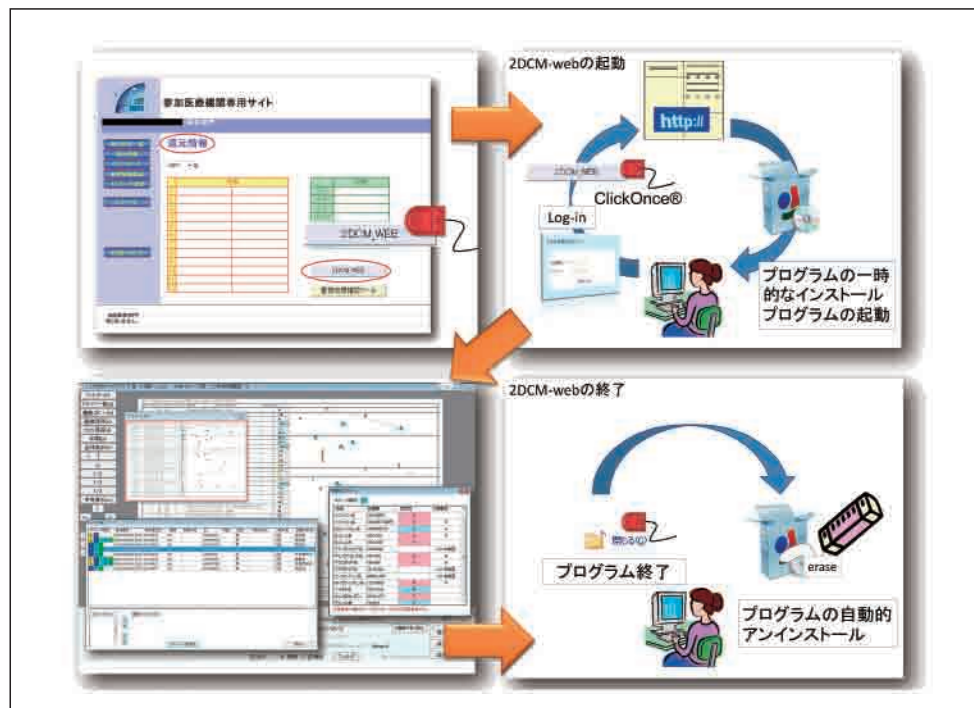


図10 2DCM の web アプリケーション化と JANSI への実装 (2DCM-web)

iii. 学会などによる監視システム

学会によっても、JHAIS（日本環境感染学会、SSI サーベイランス、医療器具関連サーベイランス）、日本化学療法学会、日本感染症学会、日本臨床微生物学会による合同の抗菌薬感受性サーベイランスなどが行われている。JHAIS の SSI サーベイランスは既に11回の全国集計を行っており、分離菌種の集計も行われている。継続することによって監視システムとして機能することが期待できる。

b. 施設レベルでの監視システム

施設レベルでの監視システムとしては、検査システムなどに付随した、いわゆる院内感染対策システムが複数実用化されている。多くは、検査システムの延長線上で菌の分離状況を分かりやすく表示する機能に、菌の分離数が一定数を超えると警告が出るような仕組みを組み込んだものである。菌の院内拡散などを自動検出するアルゴリズムの試みとしては筆者らの開発したアルゴリズム以外ではデータマイニングによる異常の発見の試みがある^(5,8,11)。データマイニングは、予測できないようなデータの結びつきを見つけ出すことができるが日常的な異常を検出することはできない。

i. 菌の院内拡散を検出するアルゴリズムを持ったシステム

現在までに、菌の院内拡散を自動検出できるアルゴリズムを持ったシステムは、筆者らが開発した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」(NUICS; National University Infection Control System)⁽¹²⁾、標準化（旧中小規模病院）院内感染症監視システム (SHIPL; Standardized Hospital Infection Primary Lookout) のみである。現在、NUICS は運用終了し、SHIPL に統合移行している。

SHIPL には、菌の異常集積の自動検出、警告スコア累積、2DCM などが実装されており、中小規模病院、中規模研修病院、大規模研修病院、大学病院の各規模で利用されている。SHIPL

は JANIS の検査部門データフォーマットを拡張したデータフォーマットを採用しており、現在複数の外注検査会社が SHIPL 対応のデータを送信できるだけでなく、殆どの検査機器、データ管理装置、細菌検査システムも JANIS 検査部門のデータフォーマットに対応しているため、これらの機器への接続も容易である。

ii. 細菌検査システムの発展型

検査機器メーカーから、複数のシステムが発売されている。外注検査会社が自社の検査データを web で公開するために開発したシステムに、感染症対策に利用できる表示を加えたものもある。これらは、自社の検査機器からのデータ取り込み、あるいは、自社のデータ管理装置（細菌検査システム）からのデータ取り込みを前提としていることが多い。

米国では TheraDoc が複数の施設に導入されているが、標準化が進んでいないために、データの取り込みに多くの経費が必要になっている。

c. 複数施設を監視するシステム

感染対策地域連携加算の導入を含めて、地域、あるいは、グループ、関連病院など複数医療機関の細菌検査結果などを一カ所で監視するシステムの需要がある。同一メーカーの検査機器を用いている医療機関がデータを共有する試みがあるが、それ以外では、データのやりとりが問題となり、複数の異なったシステムを結ぶ試みは、SHIPL による複数施設データの取り込みの例が、東海大学にあるのみである。東海大学では、Medlas-SHIPL[®]を改造して複数施設データを自動受信、自動解析可能にしたシステムを構築し 4 医療機関の全検査データを 2 外注検査会社から送信を受け、さらに、菌株の収集も行うシステムを稼働させ研究と感染対策支援を行っている(図11)。

感染対策の専門家が不足する中で、複数施設のデータを自動解析して監視できるシステムの需要は増えると考ええる。

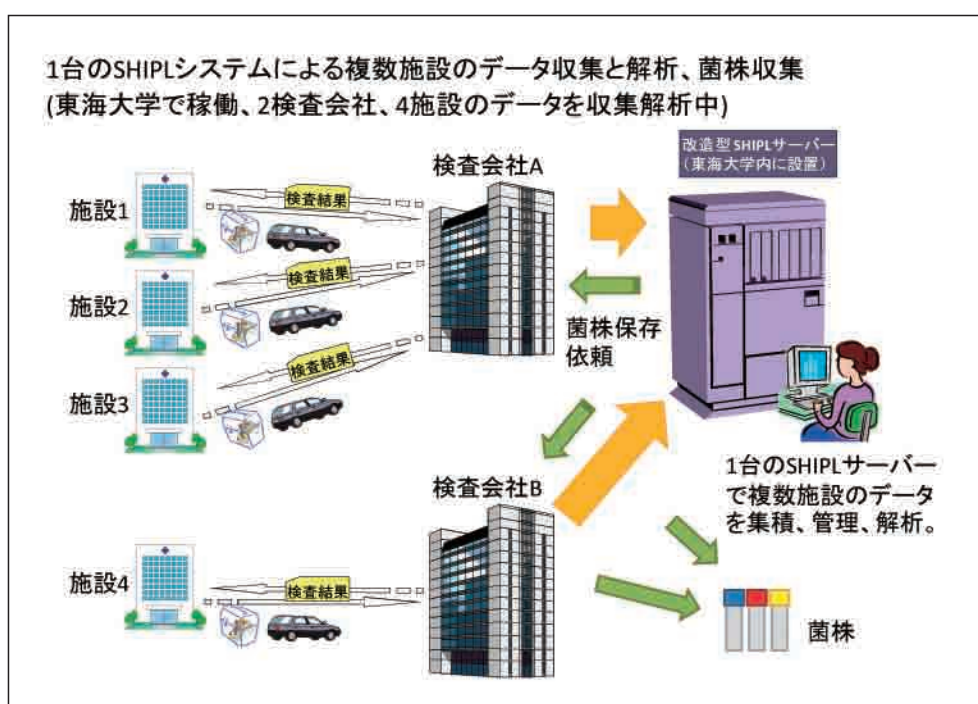


図11 複数施設を監視するシステム

7. 院内感染症対策の問題点と「院内感染症制御のための監視システム」の将来

感染対策に用いる監視システムの開発普及を図る中で、院内感染対策について、問題の認知が不十分であることが問題となった。一つには、感染対策に関わる基礎的な知識の不足、ご認識が挙げられるが、それよりも問題となったのは、院内感染自体の認知の問題であった。

これには、1) 日和見感染症の起因菌が常在菌であるために検出されただけでは異常とはいえない、2) 菌が目に見えないため、院内での感染の有無、拡がり把握できないという問題があり、そのために、院内感染対策に関わる人たちさえも院内感染の認知が十分にできないという深刻な問題があることが分かった。

リスクが認知されず、院内感染のリスクの評価が行われないうために、院内感染によって発生する損害を逸失利益を含めて評価することができず、損害の予測ができないために、リスク回避にどれだけの投資をすべきかも評価ができないという問題が見えてきた。

院内感染のリスクは、菌の院内拡散を可視化することで認知可能になる、すなわち、感染対策の高精度化を行うことで認知可能になるが、リスクの評価ができていないために、高精度化を行う必要性も認知されないという悪循環が存在している。

2DCM-web の JANIS 導入は、リスク認知を促し、良循環を作ることとを目的とした。今後も、リスク認知、incentive による循環の加速を図ることで、感染対策のためのシステムの普及、それに伴う感染対策の高精度化が進み、国民の安全が守られることが期待できる。

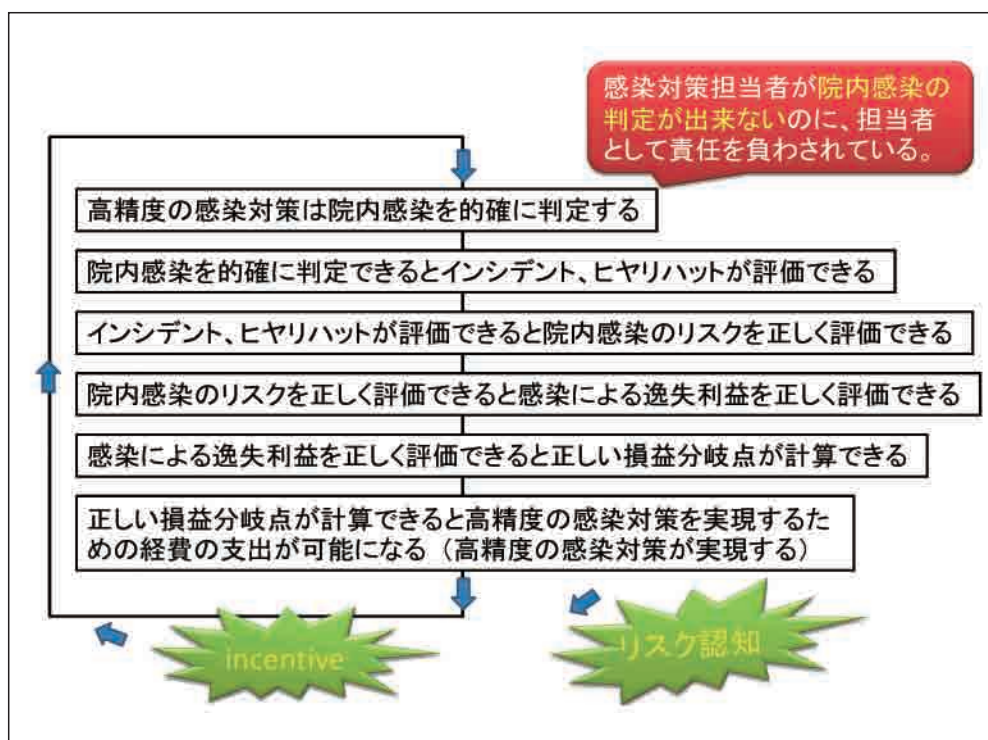


図12 感染対策の高精度化と院内感染のリスク評価が作る良循環

参考文献

1. 厚生労働省. 第1回地域保健対策検討会議事録 <http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000000p48x.html>,
2. Graham DR, Dixon RE, Hughes JM, Thornsberry C. Disk diffusion antimicrobial susceptibility testing for clinical and epidemiologic purposes. *Am J Infect Control*, 1985; 13: 241-9.
3. Jackson MM: General Principles of Epidemiology: IN: APIC Infection Control and Applied Epidemiology: Principles and Practice. Mosby, St. Louis, 1996.
4. Lynch, P et al: Introduction to Section II, The Six Links in the Chain (Chain of Infection): Gina Pugliese, ed. IN: Infection Prevention with Limited Resources. ETNA Communications LLC, Chicago, IL, USA, 1997. p. 79.
5. Moser SA, Jones WT, Brossette SE. Application of data mining to intensive care unit microbiologic data. *Emerg Infect Dis*, 1999; 5: 454-7.
6. Galdabart 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*, 2000; 38: 185-90.
7. de Man P, Verhoeven BA, Verbrugh HA, Vos MC, van den Anker JN. An antibiotic policy to prevent emergence of resistant bacilli. *Lancet*, 2000; 355: 973-8.
8. Brossette SE, Sprague AP, Jones WT, Moser SA. A data mining system for infection control surveillance. *Methods Inf Med*, 2000; 39: 303-10.
9. Palumbi SR. Humans as the world's greatest evolutionary force. *Science*, 2001; 293: 1786-90.
10. Montesinos I, Salido E, Delgado T, Cuervo M, Sierra A. 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*, 2002; 40: 2119-25.
11. Poupard J, Brown J, Gagnon R, Stanhope MJ, Stewart C. Methods for data mining from large multinational surveillance studies. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002; 46: 2409-19.
12. 藤本修平, 池 康嘉, 酒巻哲夫, 森下靖雄, 村上啓雄 他. 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* 2002; 22: 546-547.
13. 藤本修平. 耐性菌サーベイランスの目指すところ. *INFECTION CONTROL* 2004 2004; 13-10: 1024-1030.
14. Fishman N. Antimicrobial stewardship. *Am J Med*, 2006; 119: S53-61; discussion S62-70.
15. 藤本修平, 富田治芳, 池 康嘉. (特集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* 2007; Vol.35 No.5 (2007・5): 449-455.
16. 里村秀行, 尾高郁子. 当センターにおける耐性菌の動向と特定抗菌薬使用届の運用体制の確立. 第19回日本臨床微生物学会総会抄録集 2007; 17: 122.
17. Deplano A, Denis O, Nonhoff C, Rost F, Byl B, Jacobs F, Vankerckhoven V, Goossens H, Struelens MJ. 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*, 2007; 60: 849-54.
18. 藤本修平. 院内感染を防ぐ細菌院内拡散自動検出法. *Medical Technology* 2008; 36: 682-683.
19. Martinez JL. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science*, 2008; 321: 365-7.
20. Pakyz AL, Oinonen M, Polk RE. Relationship of carbapenem restriction in 22 university teaching hospitals to carbapenem use and carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009; 53: 1983-6.
21. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care; First Global Patient Safety Challenge Clean Care is Safer Care. WHO, 2009;
22. 八束眞一, 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), 2009 ; 37 : 362-366.
23. 日本の病原体サーベイランスシステムと IASR. *IASR* 2010 ; 31 : 69-72.
 24. Broschat SL, Call DR, Davis MA, Meng D, Lockwood S, Ahmed R, Besser TE. 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*, 2010; 48: 4072-82.
 25. 藤本修平. 細菌学者の院内感染対策、サーベイランスへの寄与. *感染制御* 2010 ; 6 : 550-554.
 26. Gould CV, Umscheid CA, Agarwal RK, Kuntz G, Pegues DA. Guideline for prevention of catheter-associated urinary tract infections 2009. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2010; 31: 319-26.
 27. 藤本修平. 人獣共通細菌データベースの必要性. *動物抗菌会報* 2010 ; 32 : 12-24.
 28. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業—JANIS. *IASR* 2011 ; 32 : 1 -2.
 29. O'Grady NP, Alexander M, Burns LA, Dellinger EP, Garland J, Heard SO, Lipsett PA, Masur H, Mermel LA, Pearson ML, Raad II, Randolph AG, Rupp ME, Saint S. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Am J Infect Control*, 2011; 39: S1-34.
 30. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-first informational supplement. M100-S21: Clinical and Laboratory Standards Institute
 31. 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* 2011 ; 32 : 9-10.
 32. Srinivasan A, Fishman N. Antimicrobial stewardship 2012: science driving practice. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2012; 33: 319-21.
 33. McGowan JE. Antimicrobial stewardship--the state of the art in 2011: focus on outcome and methods. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2012; 33: 331-7.
 34. 藤本修平. 「厚労省 JANIS 事業の安定運用と改善及び院内感染対策の高精度化を目的とした電子システムの研究」. 平成23年度厚生労働科学研究費補助金 (新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業) 「新型薬剤耐性菌等に関する研究」(H21- 新興 - 一般 -008) 分担研究報告書 2012

臨床検査としての薬剤感受性試験の現状と問題点 特にグラム陽性菌を中心にして

獨協医科大学病院・感染制御センター

奥 住 捷 子

■ 内容	
はじめに	59
1. 我が国の検査室は、MRSA 関連の情報を正確に検査報告できているか	60
a. 出題内容	61
b. 参加施設状況	61
c. 評価方法	61
d. 同定検査サーベイの成績	61
i. 同定菌種名	61
ii. 同定機器／方法別の同定成績	61
iii. 同定結果のまとめ	62
iv. 同定方法、付加コメント	62
e. 薬剤感受性検査サーベイの成績	62
i. 薬剤感受性試験回答状況	62
ii. 薬剤感受性試験の検査方法	62
iii. 薬剤感受性試験のまとめ	62
2. 私の戸惑いと悩み	63
最後に	63
参考文献	64

はじめに

グラム陽性菌の耐性は、MRSA を初めとし、Methicillin のブレイクポイントが *S. aureus* と同じ *Staphylococcus lugdunensis* と *S. lugdunensis* 以外の -CNS (coagulase negative staphylococcus 属) の Methicillin 耐性株、耐性菌にはなり難いとされていた肺炎球菌の PRSP 化、溶血性レンサ球菌のマクロライド系薬およびフルオロキノロン系薬の耐性株、 β -ラクタム薬の低感受性化などや VRE¹⁾、その他各種グラム陽性桿菌の耐性化、*Clostridium difficile* などがある。これらのグラム陽性菌の耐性菌は、検出菌の正確な同定と薬剤感受性検査の迅速で的確な報告が臨床検査として重要であることはいうまでもない。

一方、医療法の改正により微生物検査室の院内設置義務がなくなったこと、また医療経済上、院内の臨床微生物検査が年々減少の一途を辿り、外注化や FMS 化する傾向が著明になってき

た。医療施設内感染発生の報道や、臨床教育の前倒し、医学部の純粋な基礎教育・研究機関であった微生物学や細菌学講座が感染症・微生物学講座や感染制御学講座として改組、新設が行われはじめ早20年が過ぎ去ろうとしている。近年、感染制御部や感染症科を標榜する診療科の設立、若い医師層の感染症専門への志向、微生物関連検査項目の診療報酬が若干上昇傾向を示し、微生物検査に対する病院管理者の考え方も徐々に変わってきて、微生物検査を院内検査として利用できるよう組織を変更している病院もある。

感染症は病態の進展が早く生命予後にも危険を及ぼすことがあるため、診断に用いられる微生物検査は迅速対応が望まれる。しかし外注化などから患者の近く（ベッドサイド）での検査が実施されず、結果を得るまでに時間が掛かることが、診療に役に立たない検査とされ悪循環を招いている。検査技師ならびに検査部管理者は、迅速に検査結果が得られる塗抹検査、各種抗原検出検査などベッドサイドで行なうように業務内容を工夫し、適正な検査室を運営しなければならない。

このような厳しい環境におかれた臨床微生物検査室が、施設内で存続してゆくためには、診療に役に立つ高品質の感染症関連の各種検査を実施しその結果を迅速・的確に報告し活用できる体制作りも重要である。そのためには、微生物検査の精度保証をするとともに、検査手技の熟達度、標準化、内部精度管理、外部精度アセスメント、検査サービスの組織化や検査室の管理運営に必要なあらゆる条件が含まれる^{2~3)}。検査業務の中で歴史の長い微生物検査は、他の検査分野と異なり自動化が遅れていた。しかし、現在では各種キット類や同定・感受性試験の自動機器等の導入が行われ、一定レベルの検査の質保証ができていると考えられがちである。また一部の臨床医からは微生物検査データへの期待・信頼感もなく微生物検査室の存在すら疑問視されている施設もある。このような中での微生物検査の質の保証は困難を極め、精度管理をみても、事業を実施する側、される側とも敬遠されがちである^{4,5)}。衛生行政にかかわる各種細菌感染症の届出の元となる検査、施設内感染防止対策における微生物検査の質の問題と対応などから、細菌検査の精度管理の現状と問題点、精度管理に対する考え方、微生物検査のあり方について日本臨床衛生検査技師会（日臨技）の精度管理事業の結果を見ながら述べたい。

微生物検査の外部精度管理

現在、国内で行われている精度管理事業は、日本臨床衛生検査技師会（日臨技）、日本衛生検査所協会（日衛協）、都道府県技師会、試薬・機器メーカーなどによりそれぞれ個別に行われている。日本病院機能評価機構でも、検査室の管理運営の観点から外部精度管理は、必須項目として点検されており、受審するためには外部精度管理のデータ提示が求められている。

平成23年度の MRSA ならびに平成10・11年度に実施された日臨技の精度管理報告書^{6,9)} から、微生物検査の問題点と現状を考えたい。

1. 我が国の検査室は、MRSA 関連の情報を正確に検査報告できているか

平成23年度日臨技臨床検査精度管理報告書⁷⁾ の微生物検査の同定と薬剤感受性サーベイ中から、以下【試料33】MRSA について述べる。

a. 出題内容

【試料33】評価対象（同定・薬剤感受性検査）

患者・現病歴：73歳の男性。脳出血のためにICU入院となり、中心静脈カテーテル管理中の患者である。入院6日後に悪寒、戦慄、発熱を認めた。カテーテル刺入部の発赤、腫脹を認めたためカテーテル感染が疑われカテーテルが抜去、血液培養とともに提出された。この症例から検出された菌株を送付する。

微生物検査：本菌はカテーテル先端培養および血液培養から検出された

問 題：貴施設の日常検査法によって試験菌を分離し、同定検査と以下に指定の抗菌薬3薬剤について感受性検査を実施してください。

検査指定抗菌薬：MIPIC、CEZ、GMである。

b. 参加施設状況

平成23年度微生物検査の同定と薬剤感受性サーベイの参加施設は、1,237施設で一昨年に比較し77施設減少した。これは、3月11日に発生した東日本大震災の影響があったものと思われる。薬剤感受性検査法の方法別の割合は、出題菌種や試験抗菌薬の種類によって影響を受ける。平成23年度の【試料33】の同定検査・薬剤感受性検査の参加施設が1,172で、この試料の判断基準に使われるMIPICの感受性検査の参加施設数1,156である。MIPICの薬剤感受性試験の参加施設は16施設少ない。そのMIPICの感受性試験測定法から、微量液体希釈法で検査している施設が1,027施設（88.8%）と約9割を占めており、CLSI/NCCLS標準ディスク法は128施設（11.1%）測定法未記入1施設である。

c. 評価方法

試験菌株はMRSAで*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (NCTC133373由来株：ATCC43300相当)が各施設に送付され、その検査結果を評価した。平成23年度調査は、全ての項目を評価対象項目とし、参加施設の検査精度を中心に評価を実施した。評価は「ABCD」に変更しAおよびBを「正解」、CおよびDは「不正解」とした。なお、目標値設定の目的で各メーカーへも試料を配布して、このデータもあわせて評価の参考とした。

d. 同定検査サーベイの成績

i. 同定菌種名

正解菌名である*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (MRSA)：(評価A)となった施設が1,140 (97.3%)、*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*：(評価C)となった28施設 (2.4%)、不正解（評価D）の回答は*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (MSSA) が2施設、*Staphylococcus* sp. と回答した1施設、評価外の回答は1施設あった。

ii. 同定機器／方法別の同定成績

マイクロスキャン WalkAway（シーメンス HCD）が546施設と最も多く、ついで用手法236施設、バイテック2（シスメックス・バイオメリュー）210施設、PHOENIX（BD）53施設、マイクロスキャン autoSCAN-4（シーメンス HCD）49施設、RAISUS（日水）35施設、バイテック1（シスメックス・バイオメリュー）27施設、クリスタルリーダー（BD）8施設、ATBExpression（シスメックス・バイオメリュー）5施設、未記入3施設であった。

同定機器 / 方法別の同定成績の正解率：評価 A + B を正解として集計し、使用機器方法の多い順に並べると、マイクロスキャン WalkAway（シーメンス HCD）が546施設中544施設（99.6%）、ついで用手法236施設中222施設（94.1%）、バイテック 2（シスメックス・バイオメリュー）210施設中200施設（95.2%）、PHOENIX（BD）53施設中51施設（96.2%）、マイクロスキャン autoSCAN-4（シーメンス HCD）49施設は100%、RAISUS（日水）35施設は100%、バイテック 1（シスメックス・バイオメリュー）27施設中24施設（88.9%）、クリスタルリーダー（BD）8施設100%、ATBExpression（シスメックス・バイオメリュー）5施設100%、方法を未記入の3施設での検査結果の一致施設は2施設（66.7%）であった。

正解率は、機器 / 方法の未記入2施設を除けば、他は88.9～100%と良好であった。

iii. 同定結果のまとめ

試験菌株は、*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*（NCTC133373由来株：ATCC43300）である。臨床検査で *Staphylococcus aureus* を分離した場合の診療側への報告は、感受性試験結果の有無にかかわらず、現在の段階では MSSA か MRSA を区別して報告すべきであると日臨技は考えている。したがって *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*（MRSA）のみを評価 A とし、正解率は97.3%であった。

iv. 同定方法、付加コメント

同定方法は、自動機器が約80%、用手法が約20%であった。性状または成績判定に関する付加コメントで「分離培地上に同一菌種で集落性状の異なる複数の株が認められた」を選択した施設が230施設あった。今回の株はヒツジ血液寒天培地上で γ 溶血と β 溶血の集落が混在していたが、どちらも *S. aureus* と同定され MIPIC の感受性結果が耐性（R）であることから *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*（MRSA）のみを正解とした。また感染症法に関する付加コメントで「4類感染症として取り扱う」を選択した施設が7施設、「感染症法で規定された菌ではない」を選択した施設34施設あった。MRSA 感染症は5類基幹定点の報告対象になっているので該当施設では感染症法の届出基準について確認する。

e. 薬剤感受性検査サーベイの成績

i. 薬剤感受性試験回答状況

検査指定抗菌薬の MIPIC は1,156施設、CEZ は1,154施設、GM は1,127施設で実施されたが、検査結果未記入施設が散見された

ii. 薬剤感受性試験の検査方法

3剤全体で微量液体希釈法を用いた施設が88.7%～89.4%、CLSI/NCCLS 標準ディスク法が10.5%～11.2%、Eテストは0%、未記入が0.1%であった。今年度も微量液体希釈法での回答施設は1,000施設を超えマイクロスキャン（MicroScan）が58.7～60.7%、バイテック（VITEK）が20.7～21.2%、栄研関連製品が6.0～6.5%、フェニックス（PHOENIX）が4.1～5.1%、ライサス（日水）3.1～3.6%と使用機器の比率は昨年と比べ大きな変動はなかった

iii. 薬剤感受性試験のまとめ

※ 1) 微量液体希釈法による薬剤感受性成績

微量液体希釈法における評価設定は、MIPIC はブレイクポイントの R の範疇である MIC 値 $> 2 \mu\text{g/ml}$ でカテゴリー判定が R を（評価 A）とし、カテゴリー判定は正解だが MIC 値が $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ の S の範疇にある場合を（評価 B）とした。CEZ は、本試験菌株が MRSA であるため MIC

値の結果にかかわらずカテゴリー判定をRとした場合を（評価A）とした。GMは回答全体の分布およびメーカーサーベイのデータを考慮し、 $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ を正解としそれ以外を不正解とした。MIC値から見た回答状況は、MIPIC、GMではきわめて良好な結果であった。MIPICにおいて不正解の $2 \mu\text{g/ml}$ 以下の施設が6施設あり、メーカー別では日本BD4施設、シスメックス・バイオメリュー2施設であった。CEZではMIC値にばらつきが見られた。その理由としては、ヒツジ血液寒天培地上で γ 溶血と β 溶血の集落が混在していたことが考えられる。

※2）微量液体希釈法による薬剤感受性成績の解釈の回答状況

薬剤感受性成績の解釈の回答状況は、*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (NCTC133373由来株：ATCC43300相当)はMRSAであり、MIPIC：R、CEZ：Rとなる。今回、MIPICのMIC値は不正解であったが、解釈が正解となった施設が5施設、解釈も不正解であった施設が1施設あった。CEZはMIC値の成績に関係なくRと報告する必要があるが、Sと報告した施設が15施設（1.5%）あった。

※3）ディスク拡散法による薬剤感受性成績

ディスク拡散法における評価設定は、MIPICはブレイクポイントのRの範疇である阻止円直径 $\leq 12\text{mm}$ でカテゴリー判定がRを（A評価）とした。CEZは、本株がMRSAであるために阻止円直径の大きさにかかわらずカテゴリー判定をRとした場合を（A評価）とした。GMは回答全体の分布およびメーカーサーベイのデータを考慮し、統計学的上下限值 $M \pm 2SD$ （中央値：M、標準偏差：SD）範囲内の $0 \sim 14\text{mm}$ を（A評価）とし、阻止円直径が、ブレイクポイントのRの範疇をはずれ、統計学的上限の（ $M \pm 2SD$ ）より大きい場合をD評価とした。

※4）CLSI/NCCLS 標準ディスク法の回答状況

CLSI/NCCLS 標準ディスク法の回答状況は、微量液体希釈法と同様に、MIPIC、GMにおいて良好な結果であり、不正解は、MIPICの4施設、GMの1施設であった。解釈の回答状況については、解釈を間違えて不正解となった施設がCEZで17施設（13.2%）あった。

2. 私の戸惑いと悩み

1980年代から検出され始めたMRSA：我が国でもっとも古典的というか普遍的な耐性菌であるMRSAの精度管理の状況を平成23年度日臨技臨床検査精度管理報告書の微生物検査の同定と薬剤感受性サーベイの結果から報告した。わが国の微生物検査室は、MRSA関連の検査を的確に行い、MRSA関連情報を正確に検査報告できていると確信していたのですが、諸先生方はこれらの結果をご覧になられて如何でしょうか。

最後に

微生物検査の外部精度管理は、当面教育目的と考え、当事者はむろんのこと臨床検査医、感染症専門医、ICDなど感染症ならびに感染症検査に詳しいかたがたに実態をあまねく承知していただく。一方、検査技師として、自己研鑽は当然として検査の精度保証：検査の全工程に関する熟達度の維持向上は、卒前教育・卒後研修制度の未整備など検査技師の教育制度の問題でもある。感染症を専門とした検査学の指導者の下で臨床微生物学研修をうけ日々業務を遂行している検査技師は少なく、指導者不足を嘆く検査技師が多い。また、日頃から卓越した努力と抜きん出た知

識で施設内の微生物検査に従事している検査技師も多い。そして良質な医療を提供するためにとの高邁な思想のもとで検査技師個人の質の向上、検査室単位の向上を目指して、日本臨床微生物学会など感染症・検査関係5団体で、認定臨床微生物検査技師制度を立ち上げ、平成24年現在507名の認定臨床検査技師がいる。

医療の中における臨床微生物検査室の健全な運営は、現行の診療報酬で策定された検査項目と検査方法だけでは役に立たない検査と位置づけられる。現在の医療における感染症検査は、新興・再興感染症の起因病原体検索と日和見感染症の起因病原体検出ならびに施設内感染制御に関連する微生物検査などである。特に診療に使用した検査結果を感染制御策として有効利用していることを、衛生行政の方や診療報酬策定にかかわる方々に承知していただきたいと思う。

微生物検査室の目下の課題は

1. 感受性試験により新しい耐性機構を持つ耐性菌を適切に推定検出可能とする
2. 疑義のある感受性パターンを示す株はすぐ相談
3. 自施設で使用中の自動感受性測定装置の解析プログラムはCLSIの2009年版（2012年7月20日現在）。改変されるCLSIのブレイクポイント変更について、各施設で独自にシステム変更し対応している施設は全国で約10%の施設
4. 感染性の強い3種病原体の多剤耐性結核菌、4種病原体の細菌：赤痢菌、チフス菌、パラチフスA菌、腸管出血性大腸菌、結核菌を安全に的確に迅速に検出し、届出などの的確に行う
5. 新しい多剤耐性菌：学問的名称と感染制御で使う総称名⁸⁾
6. MRSA以外の多剤耐性菌：二症例目を拡大させない工夫
7. 医学教育・看護教育の中で感染制御微生物学の確立への支援

文 献

- 1) Recommendations for preventing the spread of Vancomycin resistance: Recommendations of the hospital infection control practices advisory committee (HICPAC) MMWR (Morbidity and Mortality Weekly Report) September 22, 1995/Vol.44/No.RR-12;
- 2) 熊坂一成：臨床微生物検査のEQAとGLM. 臨床病理 46：124～131, 1998
- 3) Kumasaka,K., Kawano,K., Yamaguchi,K., *etal*: A study of quality assessment of clinical microbiology performance of independent laboratories in Tokyo-18-years of participation in the in the Tokyo Metropolitan Government External Quality Assessment Program.J Infect Chermther 7: 102～109. 2001.
- 4) 巽 典之：臨床検査一口メモ No.196. なぜ微生物検査の外部精度管理があまり行われないのか？モダンメディア, 52(4)：125-128, 2006
- 5) わが国における臨床微生物学的検査の外部精度管理アセスメントに関する調査研究班（研究代表者：熊坂一成）：第2回臨床微生物検査の外部精度アセスメントに関する全国ワークショップの記録—わが国における臨床微生物検査外部精度管理調査の正しいあり方を求める、学識経験者・実務者による専門会議—平成16年度科学研究費補助金「基盤研究（C）(2)」、平成17年1月
- 6) 参考資料：平成10年度、平成11年度日臨技臨床検査精度管理報告書（社）日本臨床衛生検査技師会
- 7) 参考資料：平成23年度日臨技臨床検査精度管理報告書（社）日本臨床衛生検査技師会、2012.1
- 8) CDC: Management of Multidrug-Resistant Organisms in Healthcare Settings, 2006
<http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/ar/mdroGuideline2006.pdf>
- 9) 奥住捷子：医学検査の歩みー8 臨床微生物検査の外部精度管理. モダンメディア、52(9)：278～285、2006

寄生虫感染症と薬剤耐性

1. 蠕虫感染症と抗蠕虫薬

群馬大学大学院医学系研究科

国際寄生虫病学

教授 久 枝 一

はじめに

寄生虫 parasite は動物性真核細胞からなる病原体の総称で、ヒトを構成する真核細胞からなるということが原核生物である細菌と大きく異なる点である。いわゆる抗生物質（抗菌剤）は細菌に特異的な構造、生物学的特性を標的とすることで、ヒトには作用することなく細菌だけに効果を発揮する。例えば、ペニシリン、セファロスポリン、バンコマイシンは細胞壁の合成を阻害するし、テトラサイクリン、アミノグリコシドは70Sリボソームに作用して細菌の蛋白合成を特異的に抑制する。したがって、これらの抗生物質は真核生物である寄生虫にはまったく効果を発揮しない。とはいえ、寄生虫に対する薬剤、抗寄生虫薬はれっきとして存在する。また、結核とともに再興感染症の双璧をなすマラリアは薬剤耐性が問題となっている寄生虫感染症である。

本稿では数回に渡り、寄生虫症の特徴と寄生虫に対する薬剤、さらには薬剤耐性が問題となっている寄生虫症について概説する。

寄生虫感染症概説

寄生虫は多細胞からなる蠕虫 helminth と単細胞の原虫 protozoan とに大きく二つに分類できる。蠕虫はさらに3つ、線虫と吸虫と条虫に分類される（図1）。線虫には回虫や蟯虫、フィラリアが、吸虫には日本でも風土病的に流行していた日本住血吸虫が、条虫にはサナダムシなどが含まれる。原虫は4つ、根足虫類（アメーバ）、孢子虫類、鞭毛虫、繊毛虫

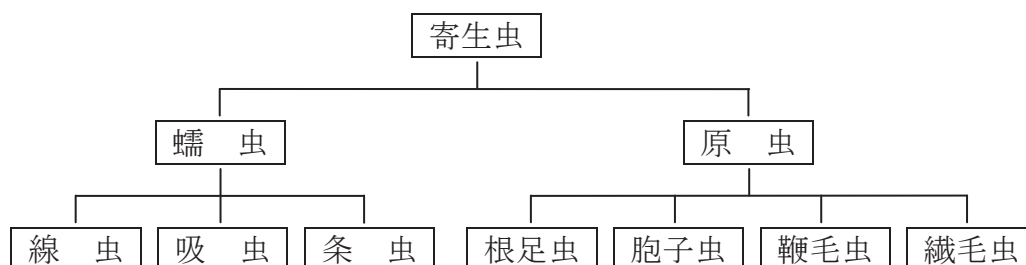


図1 寄生虫の分類

類、そして纖毛虫類に分類される。根足虫には赤痢アメーバ、胞子虫にはマラリアの原因となるマラリア原虫、鞭毛虫にはアフリカ睡眠病を起こすアフリカトリパノソーマなどが含まれる。我が国では衛生状態の改善により寄生虫感染症は激減したが、世界に目を向けると途上国を中心に全人口の40%以上が寄生虫感染流行域に住んでおり、今なお何億人もの人が寄生虫感染症に苦しめられている。多くの蠕虫は消化管に寄生し、病気を引き起こすことは少ないが、マラリア、フィラリア症、住血吸虫症の三大寄生虫症をはじめ、原虫感染症には罹患率・死亡率とも高く重篤な病態を呈するものも存在する。また、家畜やペットに感染して病気を起こす寄生虫も多数あり、畜産業界では寄生虫感染症は一大関心事である。

寄生虫疾患に対しては、薬剤による治療が施されるが、抗菌剤のように作用機序のはっきり分かっているものは少ない（表1）。個々の寄生虫感染症の概略と薬剤療法について述べる。

表1. 蠕虫感染症に対する薬剤

蠕虫感染症	抗 寄 生 虫 薬	作 用 機 序	耐性の報告
多くの線虫感染 回虫、蟯虫、鉤虫	ピランテルパモエイト	神経筋ブロック	無
フィラリア症	ジエチルカルバマジン	酸素消費抑制・アラキドン酸阻害？	無
オンコセルカ症	イベルメクチン	神経、筋細胞過分極	有
住血吸虫症 条虫感染	プラジカンテル	細胞内 Ca 濃度増加？	有
幼虫移行症	アルベンダゾール	微小管形成・フマル酸還元酵素阻害	有
	メベンダゾール	微小管形成・グルコース取込み阻害	無

蠕虫感染症

回虫 roundworm (*Ascaris lumbricoides*)、蟯虫 pinworm (*Enterobius vermicularis*)、鉤虫 hookworm (*Necator americanus*、*Ancylostoma deodunale*) は、いわゆる土壌媒介線虫とよばれる。環境中の虫卵、あるいは幼虫が感染源となる。いずれも、小腸に成虫が寄生し、ほとんどの場合無症状で経過する。回虫は多数感染による胆管や虫垂への迷入で急性胆嚢炎、虫垂炎として急性腹症を呈することが稀にある。蟯虫は肛門周囲の皮膚で産卵をするため、学童期では掻痒感で集中力を欠き学習能力の低下が懸念される。鉤虫は、腸管壁に咬着して吸血するので多数感染で失血による貧血に至る場合がある。これらの感染にはピランテルパモエイト（コンバントリン）が使用される。この薬剤は神経筋接合部に作用し、コリンエステラーゼ阻害活性を示し、虫体の痙攣性運動麻痺を起こす。

フィラリア filaria は糸状虫ともよばれ、バンクロフト糸状虫 (*Wuchereria bancrofti*) とマレー糸状虫 (*Brugia malayi*) がヒトに感染する主な種である。力によって媒介され、感染型幼虫が注入される。成虫はリンパ管に寄生し、そこでミクロフィラリアとよば

れる仔虫を産出する。ミクロフィラリアは通常、肺毛細血管にいるが、蚊の吸血行動に合わせ夜間に末梢血に現れるようになる。蚊に吸血されたミクロフィラリアは蚊の体内で感染型の幼虫に発育する。主な症状は、リンパ管閉塞、それによる度重なる炎症が原因の象皮症、陰嚢水腫である。ジエチルカルバマジン（スパトニン）が特効薬である。作用機序としては成虫の酸素消費を抑制する、ミクロフィラリアにおいてアラキドン酸の生合成を阻害する、などが想定されている。余談だが、イヌ糸状虫（*Dirofilaria immitis*）はイヌの肺動脈に感染し、唸声、呼吸困難を伴い致死的になる。予防として、蚊に刺されないことに加え、ジエチルカルバマジンの予防投与も行われる。

オンコセルカ（*Onchocerca volvulus*）は回旋糸状虫ともよばれ、リンパ寄生性のフィラリアと似通った生活環を持つ。媒介者はブユである。成虫は皮下に腫瘤をつくって寄生し、周囲の皮下組織にミクロフィラリアを産出する。重篤な症状として、ミクロフィラリアが目を通じて視神経に至ることで生じる全盲である。オンコセルカ症が河川盲目症とも言われる由縁である。治療にはイベルメクチンが使用される。作用機序は、神経細胞や筋細胞にある膜貫通性のグルタミン酸作動性の塩素イオンチャンネルに作用して塩素イオンの膜透過性を増加させ、膜の過分極を起こし、非痙攣性の麻痺を誘発する。

吸虫感染症で問題となるのは住血吸虫症である。住血吸虫は血管内に寄生することがその名前の由縁であるが、門脈系に寄生する日本住血吸虫（*Schistosoma japonicum*）とマンソン住血吸虫（*Schistosoma mansoni*）、膀胱静脈叢に寄生するビルハルツ住血吸虫（*Schistosoma haematobium*）の3種が重要である。日本にもかつては存在した日本住血吸虫は、成虫が腸管膜静脈に寄生し虫卵を産出する。門脈を介して虫卵は肝臓へと運ばれそこで沈着する。それに対する免疫応答により、肉芽腫が形成され、広く線維化が生じると末期には肝硬変へと進行する。こうなると薬剤は効果が期待できないが、急性期にはプラジカンテル（ビルトリシド）を投与することで駆虫効果が得られる。

条虫はいわゆる「サナダムシ」である。日本海列頭条虫（*Diphyllobothrium nihonkaiense*）、無鉤条虫（*Taeniarhynchus saginata*）、有鉤条虫（*Taenia solium*）が主なものである。いずれも小腸内で数メートルにも成長するが、ほとんどの場合大した症状を出すことなく経過する。肛門から虫体が出てくことで感染を知る場合が多い。条虫感染症にもプラジカンテルが有効である。この薬剤の作用も詳細は不明であるが、細胞膜のカルシウムチャンネルに作用してイオンの透過性を亢進させ虫体の筋収縮をもたらし、とされている。

多くの蠕虫は幼虫が感染し、ヒトの体内で成虫になる。この場合、症状は軽い。一方でヒトの中で成虫になれない蠕虫もいて、それらは幼虫のままヒト体内に寄生する。成虫の寄生に比べて、一般的に症状は重い。このような成虫になれない蠕虫による感染を幼虫移行症という。頻度の高い起因蠕虫に、線虫ではアニサキス（*Anisakis spp.*）、顎口虫（*Gnathostoma spp.*）、イヌ糸状虫が、吸虫では宮崎肺吸虫（*Paragonimus miyazakii*）が、条虫ではエキノコッカス（*Echinococcus spp.*）が挙げられる。幼虫移行症にはアルベンダゾール（エスカゾール）やメベンダゾールが使用される。共通の作用機序は、遊離

チューブリンに結合して微小管形成を阻害することが想定されている。アルベンダゾールはフマル酸還元酵素の阻害、メベンダゾールはグルコースの取り込みを抑制することも知られている。

抗蠕虫薬に対する薬剤耐性

蠕虫に対する薬剤の耐性も報告されているが、ヒトの蠕虫感染においては問題にならないようである。例えば、プラジカンテル耐性の住血吸虫は報告されているが今後の治療には問題のないレベルだとされている（参考文献 1、2）。イベルメクチンはヒトの蠕虫だけでなく牛やヒツジの蠕虫あるいは、ダニなど外寄生虫にも効果がある。家畜への大量投与の結果、腸内寄生性線虫やダニでの耐性が問題となっている（参考文献 3、4）。アルベンダゾールはフィラリアの補助療法としても流行域で用いられるが、これに対しては耐性のフィラリア、また耐性のメカニズムも報告されている（文献 5）。作用機序である、チューブリンの結合、を阻害すべく、フィラリアのベータチューブリンに変異が認められる。

以上のように、蠕虫感染症に対する薬剤とその耐性について概説した。次回は原虫感染について紹介する。

参考文献

1. Fenwick A, and Webster JP. Schistosomiasis: challenges for control, treatment and drug resistance. *Curr. Opin. Infect Dis.* 19: 577-582, 2006.
2. Seto EYW, Wong BK, Lu D, and Zhong B. Human Schistosomiasis resistance to praziquantel in China: Should we be worried? *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 85: 74-82, 2011.
3. Currie BJ, Harumal P, McKinnon M, and Walton SF. First documentation of in vivo and in vitro ivermectin resistance in *Sarcoptes scabiei*. *Clin. Infect. Dis.* 39: 8-12, 2004.
4. Coles GC, Jackson F, Pomroy WE, Prichard RK, von Samson-Himmelstjerna G, et al. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 136: 167-185, 2006.
5. Schwab AE, Boakye DA, Kyelem D, and Prichard RK. Detection of benzimidazole resistance-associated mutations in the filarial nematode *Wuchereria bancrofti* and evidence for selection by albendazole and ivermectin combination treatment. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 73: 234-238, 2005.

ヘルペスウイルスの薬剤耐性

群馬大学大学院医学系研究科

分子予防医学

教授 磯村 寛 樹

1. ヘルペスウイルスの感染様式

ヘルペスウイルスは生物学的性状に基づいて α 、 β 、 γ の3つの亜科に分類され、ヒトに感染する8種類のヘルペスウイルスの内、 α ヘルペスウイルス亜科にはヒトに口唇ヘルペスをおこす単純ヘルペスウイルス1型 (HSV-1) および2型 (HSV-2) とみずぼうそうをおこす水痘、帯状疱疹ウイルス (VZV) が、 β ヘルペスウイルス亜科にはヒトサイトメガロウイルス (HCMV) に加えて、乳幼児に突発性発疹をおこすヒトヘルペスウイルス6型とヒトヘルペスウイルス7型が、 γ ヘルペスウイルス亜科にはBリンパ腫を引き起こす Epstein- Barr (EB) ウイルスと HIV 感染者のカポジ肉腫の原因ウイルスである Kaposi's sarcoma- associated herpesvirus (KSHV) が存在する。

ヘルペスウイルスは初感染後、ヒトの体内に潜伏感染し、生涯ヒトと共存する。しかし α と β ヘルペスウイルスは、さまざまな要因でヒトの免疫力が低下すると、体内に潜伏していたウイルスが再活性化して、それぞれの病態を引き起こす。一方、 γ ヘルペスウイルスは潜伏しているウイルスがヒト細胞をがん化させる。

これまでの抗ウイルス薬では潜伏感染しているヘルペスウイルスに対し、薬効を示すことはできなく、潜伏感染から再活性化して増殖するウイルスにのみ薬効を示す。

2. 抗ヘルペスウイルス化学療法

現在使用されている抗ヘルペス剤は、ヘルペスウイルスが自身の DNA 複製のためにコードする DNA ポリメラーゼを標的としたものであり、アシクロビル (acyclovir : ACV)、ガンシクロビル (ganciclovir : GCV)、ペンシクロビル (penciclovir : PCV)、フォスカルネット (foscarnet : PFA) やシドフォビル (cidofovir : CDV) 等が実際に使用されている。これらの核酸類似体はウイルス DNA ポリメラーゼの基質となるが、そのためには感染細胞内で三リン酸化され、活性型になる必要がある。ACV、GCV、および PCV リン酸化はウイルスの酵素によって起こる。すなわち、HSV-1、HSV-2 および VZV のチミジンキナーゼ (TK) によって ACV と PCV は一リン酸化され、GCV は HCMV の UL97 キナーゼによって一リン酸化される。そして、細胞の酵素で二、三リン酸化され活性型となる。これら活性型の類似体は、ウイルス DNA ポリメラーゼの基質として、三リン

ン酸化核酸と競合して DNA の合成を阻害し、また合成中の DNA に取り込まれると、ウイルス DNA の伸長が停止する。PFA は直接 DNA ポリメラーゼを抑制する。CDV はすでにリン酸基を一つ持っており、感染細胞内で細胞の酵素により 2 個のリン酸を付加され活性型となり、DNA ポリメラーゼを抑制する。

3. 耐性株の出現

ヘルペスウイルスは DNA ウイルスであり、ウイルスゲノムにコードされている DNA ポリメラーゼのプルーフリーディング活性は高いため、ウイルスゲノムは比較的忠実に複製され、容易には耐性株は出現しない。ACV の耐株は、臨床的には持続して三週間以上治療している患者から見つかる。耐性株で変異のある部位は95%以上が TK 変異である。その理由としては、DNA ポリメラーゼはウイルス増殖に必須な遺伝子であるため、DNA ポリメラーゼに変異が挿入されると、変異ウイルスが増殖できなくなる場合が多く、ポリメラーゼ活性が維持されて、ACV 耐性になるという変異が挿入されることは少ない。TK 遺伝子はウイルス増殖に必須ではないものの、変異株ではウイルス増殖力が低下する。

近年、臓器、骨髄移植後のヒト免疫不全状態の HCMV の再活性化の適切な制御が移植成績の向上に必須であると考えられている。現在、HCMV の治療にはガンシクロビルやその経口プロドラッグが第一選択薬として長期間使用されている。そこで、UL97と DNA ポリメラーゼに変異を持つ耐性株の出現があり、それら薬剤耐性ウイルスに対しては、PFA と CDV が治療に使用されている。しかし、これらの薬に対する DNA ポリメラーゼ変異株による耐性株の出現があり、近年、異なるウイルス蛋白を標的とする新しい抗ヘルペスウイルス薬も数多く開発されつつあり、多いに期待されている。しかし、これらの化合物はまだ臨床応用される段階にはいたっていない。ヘルペスウイルス感染症に対する耐性株の出現を克服できる多剤薬剤の最適な組み合わせの開発が待たれるところである。薬剤投与による副作用の問題から薬剤投与を中止すると、再度 HCMV の再活性化がおこってしまうという、いわゆる “late onset HCMV disease” の問題もあり、高度先進医療のさらなる発展のためには、さらなるヘルペスウイルスの再活性化の制御が必須であることを今一度強調したい。

第41回 薬剤耐性菌研究会 開催のご案内

第41回 薬剤耐性菌研究会を以下の日程で開催させていただきますので、多数の方々のご参加をご期待申し上げます。

開催日時:2012年10月25日(木)・26日(金)

場所:岐阜県下呂市 望川館 会議室<<http://www.bosenkan.co.jp/>> (予定)

特別講演:西野 邦彦 先生(大阪大学産業科学研究所 感染制御学研究分野)
「細菌の薬剤排出システム(仮題)」

宿泊/参加費等:17,000円 (内訳:参加費7,000円、宿泊・情報交換会費10,000円)

今後のスケジュール

演題(のみ)募集期間:2012年6月1日～30日

参加仮登録開始:2012年6月1日～

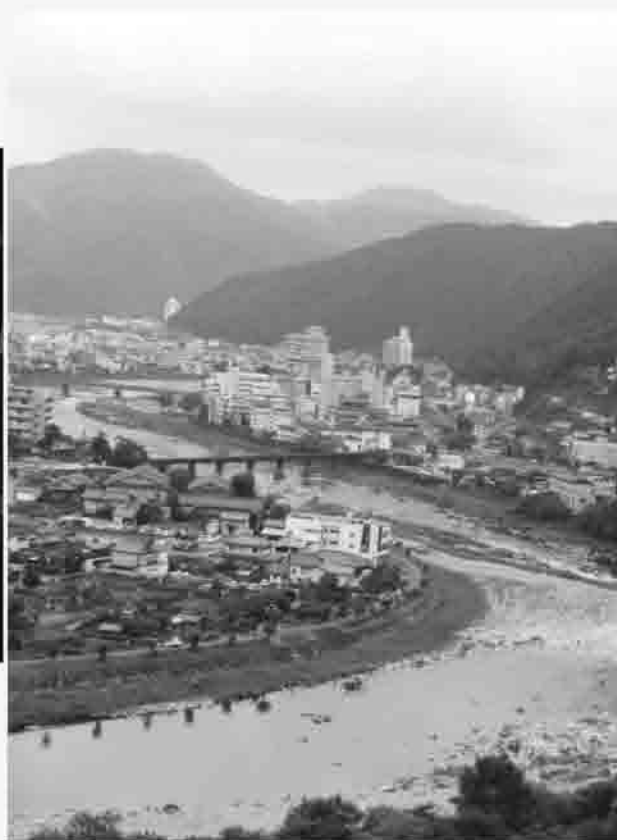
プログラム(案)公開:2012年7月10日

抄録×切:2012年9月30日

参加登録×切:2012年10月10日



下呂へのアクセス
JR名古屋駅より、特急で、約97分



開催当番:荒川宜親(名古屋大学)

問い合わせ先電話番号:052-744-2106

世話人:池康嘉、山本友子、荒川宜親

薬剤耐性菌研究会 事務局:富田治芳

(群馬大学大学院 細菌学・薬剤耐性菌実験施設: ☎ 027-220-7992)

