

目 次

ご 挨拶

富 田 治 芳

(群馬大学大学院医学系研究科細菌学)

バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) 1

富 田 治 芳^{1,2}, 野 村 隆 浩¹, 久 留 島 潤¹, 谷 本 弘 一²

(¹群馬大学大学院医学系研究科細菌学、

²群馬大学大学院医学系研究科附属薬剤耐性菌実験施設)

薬剤耐性菌検査の現状と微生物検査室の役割12

長 沢 光 章

(東北大学病院 診療技術部)

米国における多剤耐性菌の現状と感染症治療の実際19

土 井 洋 平

(ピッツバーグ大学医学部 感染症内科)

見えない新たな脅威：CRE (Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*)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)

日本の薬剤耐性菌の現状40

柴 山 恵 吾

(国立感染症研究所 細菌第二部)

(特別寄稿 1)

寄生虫感染症と薬剤耐性 2

—ミトコンドリアをもたない原虫に対する薬剤療法と耐性—.....76

久 枝 一 (群馬大学大学院医学系研究科国際寄生虫病学)

(特別寄稿 2)

ヒトサイトメガロウイルスに対する新規薬剤.....82

磯 村 寛 樹 (群馬大学大学院医学系研究科分子予防医学)

耐性菌 Q & A84

ご 挨 拶

群馬大学大学院医学系研究科細菌学 富 田 治 芳

第2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。

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。

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 細菌学分野

²附属薬剤耐性菌実験施設

富田治芳^{1, 2}、野村隆浩¹、久留島潤¹、谷本弘一²

■内容

1. はじめに	1
2. VRE の疫学	2
3. VRE の耐性機序	3
a. バンコマイシンの作用機構と耐性機構	3
b. バンコマイシン耐性遺伝子	4
c. バンコマイシン耐性の分類	4
d. VanA 型耐性遺伝子群をコードする Tn1546 のタイピング	7
4. VRE 感染症の診断	8
a. VRE 検出法と抗菌薬感受性試験	8
b. 臨床材料から VRE が分離された場合	8
c. 糞便等検査材料よりの VRE の選択的分離	8
d. <i>van</i> 遺伝子検出のための PCR	9
5. 治療	10
6. VRE の拡散を防ぐために	10
参考文献	10

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おり、日本においても VRE による感染症が急増している（図 1）。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⁾。

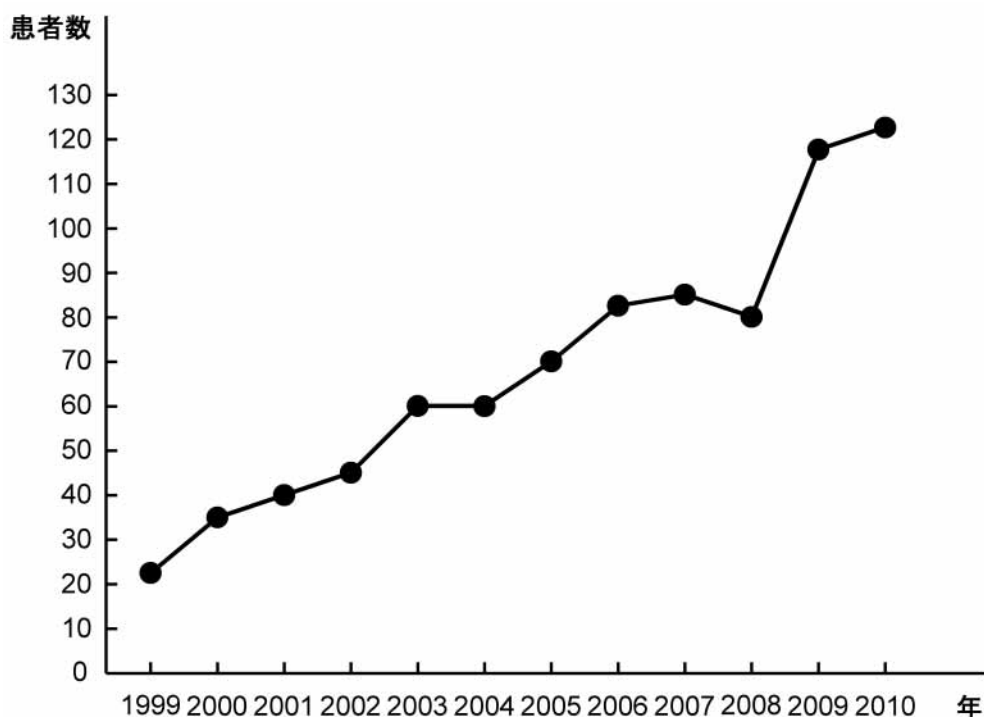


図1 感染症法に基づき報告された国内の VRE 感染症患者数

グリコペプチド（glycopeptide）系抗生物質にはバンコマイシン、テイコプラニン、アボパルシンがあり、グラム陽性菌感染症に有効な抗生物質である。作用機構はバンコマイシン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バンコマイシン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この薬剤耐性菌は、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たため本稿では VRE を GRE として用いる。

2. VRE の疫学

バンコマイシン、テイコプラニンはヒトの感染症治療薬として、アボパルシン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。バンコマイシンは世界的に用いられているが、テイコプラニン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。バンコマイシンは米国で 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。アボパルシンは、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。日本国内における鶏の調査ではアボパルシンの VRE に対する影響は出ていない。しかし、過去にアボパルシンが家畜（鶏や豚）に投与されていた国々（タイ、中国、フランス、デンマーク、ドイツ、ブラ

ジルなど）からの輸入食肉、特に鶏肉の VRE による汚染と、食肉を介したヒト環境中への伝播と拡散が指摘されている。

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、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 (図2)。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 (細菌の二成分制御系機構)、*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-alanine (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

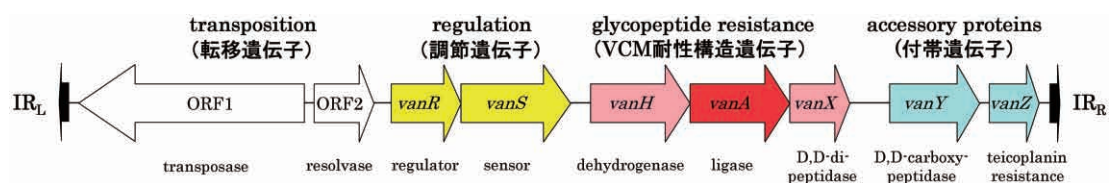


図2 VanA 型バンコマイシン耐性トランスポゾン Tn1546 (10.851 kb) の構造

のタイプ(型)が報告されている(表1、図3)。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。

表1 バンコマイシン耐性遺伝子の型分類

耐性型	ligase遺伝子	標的部位の アミノ酸置換	一般的な耐性度 MIC (μg/ml)		耐性の 発現誘導	伝達性	転移因子	遺伝子の存在部位	主な分離菌株
			バンコマイシン	テイコブラニン					
VanA	<i>vanA</i>	D-Ala-D-Lac	64 - >1000	16 - 512	あり	あり	Tn1546	プラスミド/染色体	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i> <i>S. aureus</i> (MRSA)
VanB	<i>vanB</i>	D-Ala-D-Lac	4 - >1000	0.5 - 1	あり	あり	Tn1549/5382	プラスミド/染色体	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i>
VanC	<i>vanC1</i>	D-Ala-D-Ser	2 - 32	0.5 - 1	なし	なし		染色体	<i>E. gallinarum</i>
	<i>vanC2</i>	D-Ala-D-Ser	2 - 32	0.5 - 1	なし	なし		染色体	<i>E. casseliflavus</i>
	<i>vanC3</i>	D-Ala-D-Ser	2 - 32	0.5 - 1	なし	なし		染色体	<i>E. flavescens</i>
VanD	<i>vanD</i>	D-Ala-D-Lac	64 - 128	4 - 64	なし	なし		染色体	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>
									<i>E. faecalis</i>
VanE	<i>vanE</i>	D-Ala-D-Ser	8 - 32	0.5	あり	なし		染色体	<i>E. faecalis</i>
VanF	<i>vanF</i>	D-Ala-D-Lac	>1000	<0.5	あり	不詳		染色体	<i>Paenibacillus popilliae</i>
VanG	<i>vanG</i>	D-Ala-D-Ser	16	0.5	あり	あり		染色体	<i>E. faecalis</i>
	<i>vanG_{cd}</i>	D-Ala-D-Ser	<3	<3	あり	なし		染色体	<i>Clostridium difficile</i>
VanL	<i>vanL</i>	D-Ala-D-Ser	<16	<2	あり	なし		染色体	<i>E. faecalis</i>
VanM	<i>vanM</i>	D-Ala-D-Lac	>256	>64	あり	あり		プラスミド/染色体	<i>E. faecium</i>
VanN	<i>vanN</i>	D-Ala-D-Ser	<16	<1	なし	あり?		プラスミド	<i>E. faecium</i>

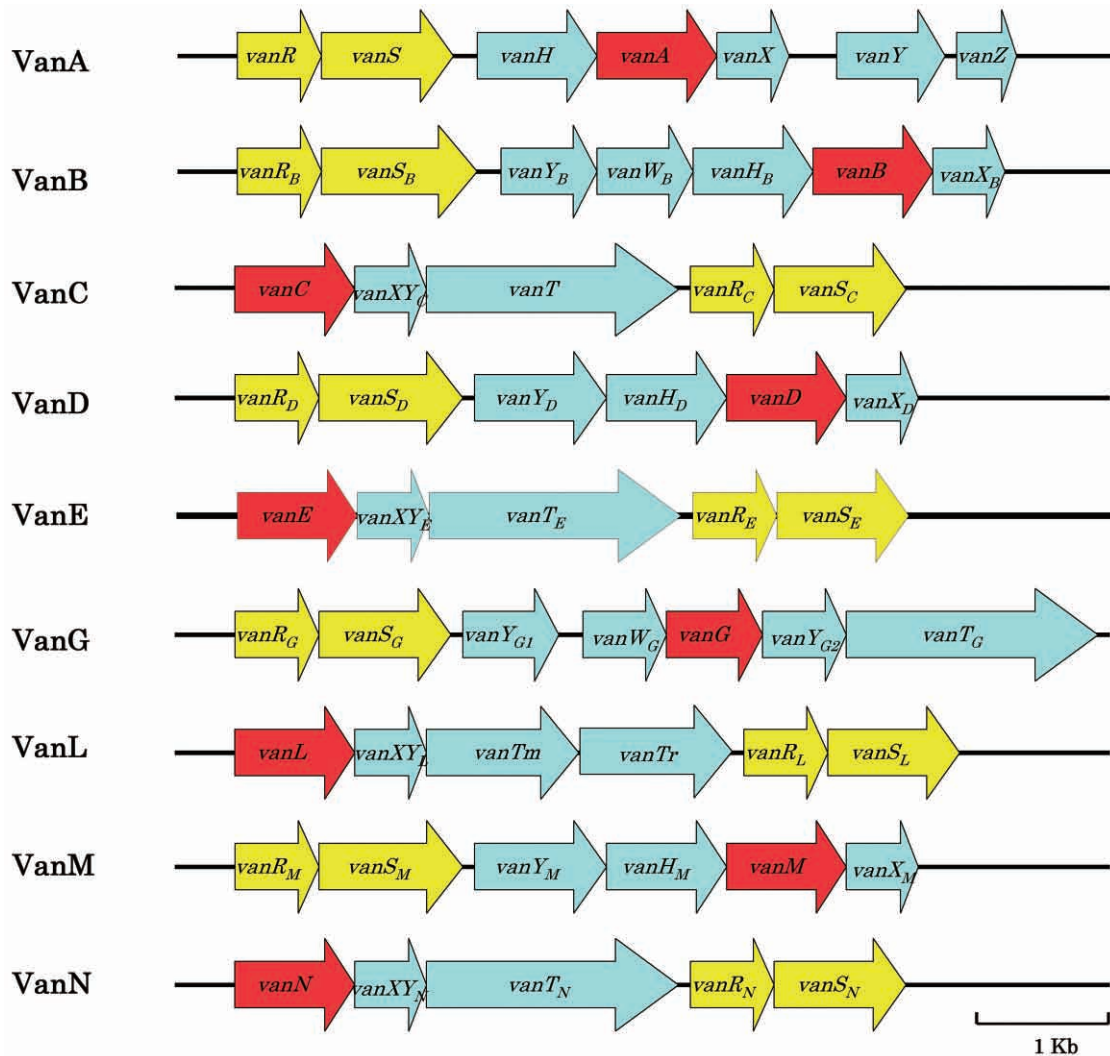


図3 各種バンコマイシン耐性遺伝子オペロンの遺伝子構成

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。この耐性誘導は Tn1546 上の二成分制御系によって環境中のグリコペプチド系薬剤を感知することによる。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トランスポゾン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 (34 kb) 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) の両者を生産してい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

での記載は無いが、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。耐性遺伝子はプラスミド上に存在し、低い頻度ではあるが *E. faecium* への伝達が報告されている。

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 3) 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 ORF1、ORF2 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 IS1216 V 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 ORF1 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 IS1216 V 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 (図 4)。

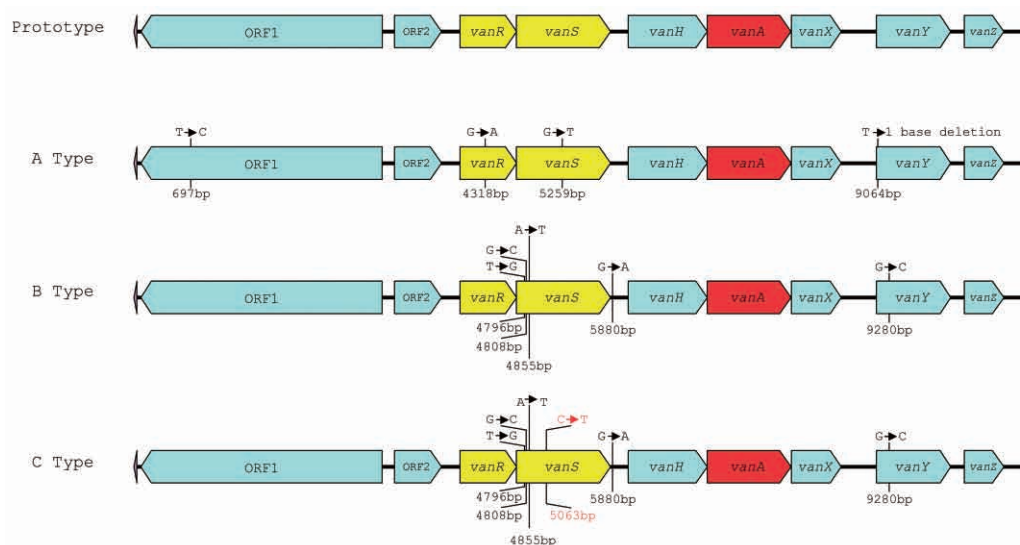


図 4 国内で分離された VanA 型 VRE 株の Tn1546 の構造とその型別

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 $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ 以下である。
2. バンコマイシンの MIC が $4\text{ }\mu\text{g/ml}$ 以下の場合を感受性、 $8\sim 16\text{ }\mu\text{g/ml}$ を判定保留、 $32\text{ }\mu\text{g/ml}$ 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 $3\sim 4\text{ }\mu\text{g/ml}$ 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 ($>1,000\text{ }\mu\text{g/ml}$) 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 $1\sim 10\text{ }\mu\text{l}$ をバンコマイシン $6\text{ }\mu\text{g/ml}$ 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。バンコマイシンの MIC 値が $16\text{ }\mu\text{g/ml}$ 以上であり、かつ腸球菌 (VRE) が起因菌による感染症と診断した場合には、感染症法に基づき (5 類感染症) 行政に届け出をすることが求められている。現在、法令の修正によって、届け出にあたり VRE が疑われる腸球菌について耐性遺伝子型 (VanA、VanB、VanC 型) を検査する義務は無くなっている。本来は無菌的である検体材料などからの分離の場合 (血液、髄液、関節液、腹水、尿など) は常在菌の混入 (腸管内容物による汚染) の可能性を考慮し、臨床所見、他の検査データと合わせ総合的に VRE による細菌感染症の診断を行う。特に尿検体からの VRE 検出時には注意が必要である。

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 $6\text{ }\mu\text{g/ml}$ を含む Enterococcosel broth (BBL) を 10 ml 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 $6\text{ }\mu\text{g/ml}$ を含む上記寒天培地上に菌液 $100\text{ }\mu\text{l}$ を塗布する。選択的増菌を行わない時はバンコマイシン $6\text{ }\mu\text{g/ml}$ 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 $35\sim 37^{\circ}\text{C}$ 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あり、またD型も我が国では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型が分離され得るため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2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2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。

表2 主な *van* 遺伝子検出のための PCR 手法

遺伝子名	プライマー名	プライマー配列 (5' → 3')	増幅領域	PCR産物の 大きさ(bp)
<i>vanA</i>	VanA A1	GGGAAAACGACAATTGC	175-191	732
	VanA A2	GTACAATGCGGCCGTTA	907-891	
<i>vanB</i>	VanB B1	ATGGGAAGCCGATAGTC	173-189	635
	VanB B2	GATTTCTGTCCTCGACC	807-791	
<i>vanC1</i>	VanC1 C1	GGTATCAAGGAAACCTC	246-272	822
	VanC1 C2	CTTCCGCCATCATAGCT	1067-1051	
<i>vanC2 vanC3</i>	VanC2/3 D1	CTCCTACGATTCTCTTG	455-486	439
	VanC2/3 D2	CGAGCAAGACCTTTAAG	885-869	
<i>ddl E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> DDL E1	TCAAGTACAGTTAGTCTT		941
	<i>E. faecalis</i> DDL E2	ACGATTCAAAGCTAACTG		
<i>ddl E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> DDL F1	GCAAGGCTTCTTAGAGA		550
	<i>E. faecium</i> DDL F2	CATCGTGTAAGCTAACTTC		

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

5. 治 療

VRE を含め腸球菌による感染症患者の多くは、生体防御能や免疫能が低下するような基礎疾患や要因が存在するため、それらに対する治療および原因を取り除くことが最重要である。そのうえで適切な抗菌薬治療を行う。IVH や尿道カテーテルなどの医療用デバイス関連による腸球菌感染が疑われた場合には、使用の中止や交換のみで改善することも多い。細菌感染症の抗菌薬治療においては、起因菌の薬剤感受性試験結果と体内薬物動態に基づき最適な抗菌薬を選択することを原則とする。VRE の多くは多剤耐性であり、院内感染症起因菌としては VanA 型 *E. faecium* 菌でアンピシリン耐性の特定クローンが多く分離される。VRE、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。Linezolid は *E. faecalis* 菌にも臨床効果が期待できるが、耐性菌も既に存在している。

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、スクリーニング検査（検便）により、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。VRE の保菌者を早期に発見し、個室管理を含めた接触予防策の徹底が重要である。また院内拡散の状況と VRE の伝播状況を把握するために、同時に環境調査も行い、VRE による汚染箇所を確認し、正確な情報に基づいて伝播拡散防止対策を講じる必要がある。自力での対応が困難な場合には、地域の基幹病院や専門家に相談し、支援を受けて対策を進めることが重要である。

今後 VRE による院内感染症の増加が危惧されているが、VRE 感染を認めない病院であっても VRE 増加の選択圧と考えられているグリコペプチド系薬や β -ラクタム系薬などの投与がされている患者、基礎疾患を持つ患者や超高齢者など易感染状態で手術予定の患者では事前の検便検査の実施を考慮する必要がある。

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.
- 5) Fujita N, et al. First report of the isolation of high-level vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from a patient in Japan. Antimicrob Agents Chemother **42**:2150. 1998.
- 6) Ike Y. et al. Vancomycin-resistant enterococci in imported chickens in Japan. Lancet **353**:1854. 1999.
- 7) Ozawa Y. et al. Vancomycin-resistant enterococci in humans and imported chickens in Japan. Appl

- Environ Microbiol 68:6457-6461.2002.
- 8) Tomita H. et al. Highly conjugative pMG1-like plasmids carrying Tn1546-like transposons that encode vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*. J Bacteriol. 185:7024-7028. 2003.
 - 9) Tanimoto K. et al. First VanD-type vancomycin-resistant *Enterococcus raffinosus* isolate. Antimicrob Agents Chemother 50:3966-3967. 2006.
 - 10) Zheng B. et al. Isolation of VanB-type *Enterococcus faecalis* strains from nosocomial infections. Antimicrob Agents Chemother 53:735-747. 2009.
 - 11) Nomura T. et al. Identification of VanN-type vancomycin resistance in an *Enterococcus faecium* isolates from chicken meat in Japan. Antimicrob Agents Chemother 56:6389-6392. 2012.

薬剤耐性菌検査の現状と微生物検査室の役割

東北大学病院診療技術部

長 沢 光 章

■内容

1. はじめに	12
2. 薬剤感受性検査法の変遷	13
3. 検査室で検出すべき耐性菌と実施状況	13
a. 微生物検査室で検出すべき薬剤耐性菌	13
b. 報告可能な耐性菌とその同定方法	14
i グラム陰性菌	14
ii グラム陽性菌	15
4. 薬剤感受性検査の問題点および課題	16
a. MRSA におけるバンコマイシンの MIC $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ の成績	16
b. 集計方法別の薬剤感受性率の相違	16
c. CLSI のブレイクポイント変更に伴う影響	16
d. MDRA 判定における薬剤による相違	16
e. JANIS 公開データと日常報告データとの相違	17
f. その他	17
5. 薬剤感受性検査の精度管理について	17
a. 内部精度管理の実施状況	17
b. 外部精度管理実施状況	17
c. 精度管理に関する問題点	17
6. 多剤耐性菌を判定するための各種検査法とその注意点	17
a. ディスク法	18
b. 微量液体希釈法	18
7. ま と め	18
参考文献	18

1. はじめに

現在、新たな薬剤耐性メカニズムの出現や耐性獲得による薬剤耐性菌が次々と出現し、感染症治療や院内感染対策において重要な問題となっている。

一方、薬剤耐性菌の検査（検出）法として従来は日常検査におけるディスク拡散法や微量液体希釈法による薬剤感受性検査により判定を行っていたが、多種類の薬剤耐性菌を検出するために

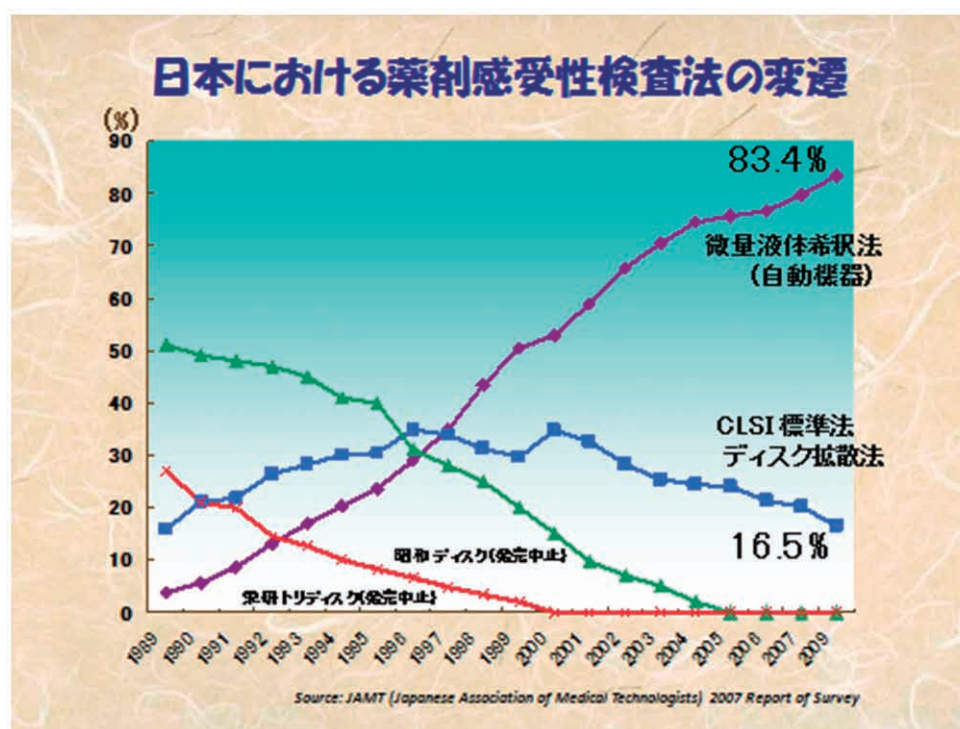
は、新たなスクリーニング検査や遺伝子検査も必要となってきた。

今回、微生物検査室において実施可能な薬剤耐性菌検査法の現状と問題点、そして役割について述べてみたい。

2. 薬剤感受性検査法の変遷

本邦における薬剤感受性検査法は、1980年代までは昭和1濃度ディスクや栄研トリディスクを中心としたディスク拡散法で実施していた。1990年代に入り VITEK や WalkAway などの自動細菌検査装置による微量液体希釈法が急速に導入されてきた。一方、国産のディスク拡散法は NCCLS（現在の CLSI）標準法である Kirby-Bauer（KB）ディスク法に置換わり、2000 年に入り国産ディスクは全て発売中止となった。

現在、約 85%以上の施設で微量液体希釈法が採用され、小規模施設や特殊な菌などで KB ディスクや E-test が用いられている。



3. 検査室で検出すべき耐性菌と実施状況

a. 微生物検査室で検出すべき薬剤耐性菌

感染症法の5類感染症に指定されている薬剤耐性菌感染症にあたるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌（VRSA）、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）、ペニシリン耐性肺炎球菌（PRSP）、多剤耐性緑膿菌（MDRP）、多剤耐性アシネトバクター（MDRA）の検出は不可欠である。その他に、問題となっている基質拡張型 β -ラクタマーゼ（ESBL）、メタロ- β -ラクタマーゼ（MBL）、NDM型およびKPC型カルバペネマーゼ産生菌などがある。

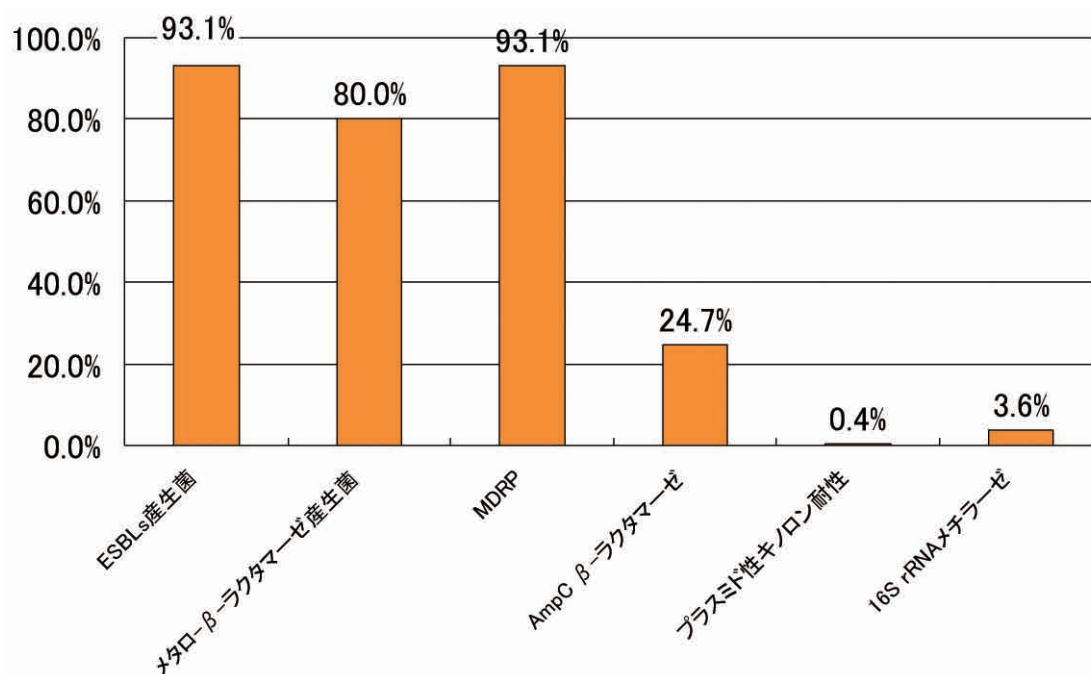
b. 報告可能な耐性菌とその同定方法

JANIS 事業の検査部門に参加している医療機関へアンケートを送付し調査を行った（2010 年実施）。

i グラム陰性菌

報告（検査）可能な耐性菌として、ESBL および MDRP 93.1%、MBL 80.0%、AmpC- β -ラクタマーゼ 24.7%で、16S rRNA メチラーゼやプラスミド性キノロン耐性菌の検出は殆ど行われていなかった。

同定方法は、 β -ラクタマーゼはニトロセフィン法が 96.8%、アシドメトリー法 0.8%、ESBLs 産生菌はクラブラン酸添加 MIC 法 67.6%、Wディスク法 62.9%、MBL 産生菌はメルカプトン酸法 83.6%、CAZ の MIC 41.8%、AmpC- β -ラクタマーゼ産生菌は CEZ 耐性 58.8%、ボロン酸阻害試験 33.8%の施設で実施されていた。遺伝学的検査法（PCR 法）を実施している施設はわずかであった。



報告可能な薬剤耐性菌（グラム陰性菌）

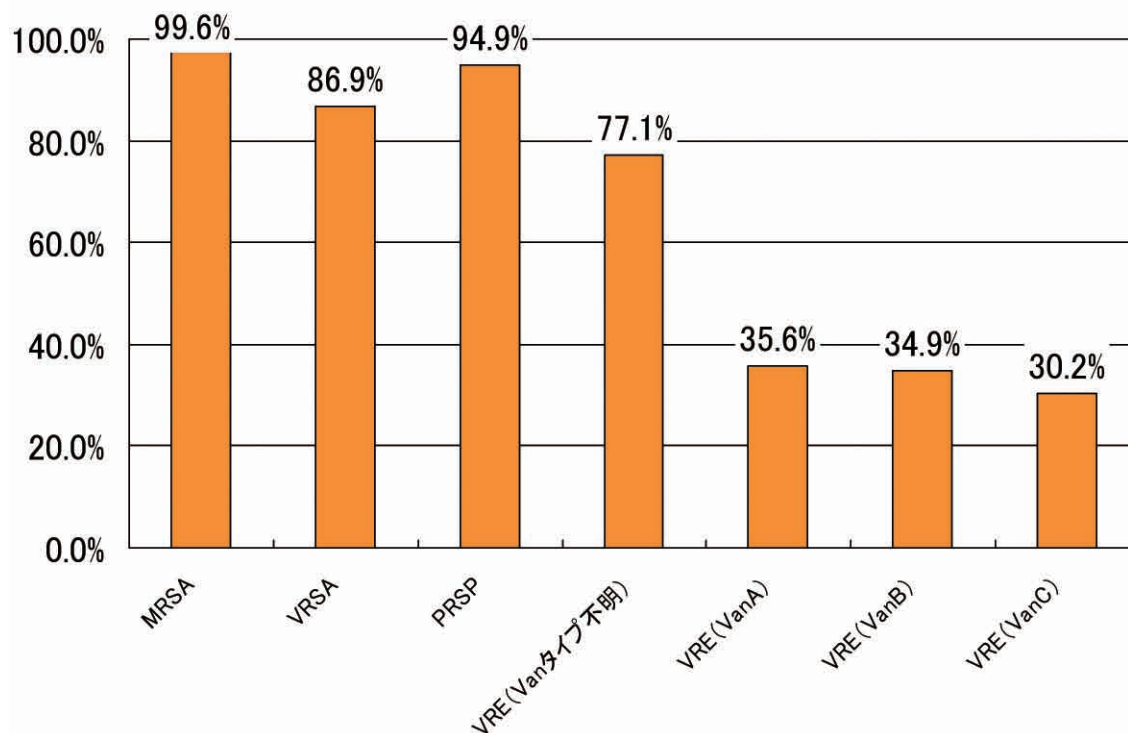
耐性菌（グラム陰性菌）同定法

耐性菌・機構	報告可能施設	実施率	耐性菌同定法					
			方法1	件数1	方法1実施率	方法2	件数2	方法2実施率
β -ラクタマーゼ	253	92.0%	ニトロセフィン	245	96.8%	アシドメトリー	2	0.8%
ESBLs産生菌	256	93.1%	CVA添加MIC	173	67.6%	Wディスク法	161	62.9%
メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌	220	80.0%	メルカプトン酸法	184	83.6%	CAZ $\geq$ 128	92	41.8%
AmpC β -ラクタマーゼ	68	24.7%	CEZ耐性	40	58.8%	ボロン酸阻害試験	23	33.8%
プラスミド性キノロン耐性	1	0.4%			0.0%			0.0%
16S rRNAメチラーゼ	10	3.6%	ABK阻止円無	8	80.0%	AMK/GM耐性+ABK $>$ 512	4	40.0%
<i>H.influenzae</i> -BLNAR	74	26.9%	ABPC $\geq$ 4かつCTX $\geq$ 0.25	66	89.2%	ニトロセフィン	14	18.9%
<i>H.influenzae</i> -BLPACR	62	22.5%	ABPC $\geq$ 4かつCTX $\geq$ 0.25	54	87.1%	ニトロセフィン	14	22.6%
PPNG	36	13.1%	ニトロセフィン	33	91.7%	PCR	1	2.8%
MDRP	256	93.1%	CAZ $\geq$ 128	43	16.8%	メルカプトン法	24	9.4%

ii グラム陽性菌

報告（検査）可能な耐性菌として、MRSA 99.6%、PRSP 94.9%、VRSA 86.9%、VRE（Vanタイプ不明）77.1%、VRE（Van型別まで）30.2～35.6%であった。

同定方法は、MRSA、PRSP、VRSA および VRE とともに薬剤感受性検査（MIC）によるものが89.8%～96.9%の施設で実施されていた。なお、MRSA の判定に PBP2' の検出を行っている施設が14.6%あった。



報告可能な薬剤耐性菌（グラム陽性菌）

耐性菌（グラム陽性菌）同定法

耐性菌・機構	報告可能施設	実施率	耐性菌同定法					
			方法1	件数1	方法1実施率	方法2	件数2	方法2実施率
MRSA	274	99.6%	MPIPC $\geq$ 4、CFX $\geq$ 8	246	89.8%	PBP2検査	40	14.6%
メチシリン耐性CNS	261	94.9%	MPIPC $\geq$ 0.5	235	90.0%	CFX $\leq$ 24mm	29	11.1%
VISA	231	84.0%	VCM8～16>	213	92.2%	VCM $\geq$ 16	2	0.9%
VRSA	239	86.9%	VCM $\geq$ 16	225	94.1%	VREスクリーニング培地	15	6.3%
PRSP	261	94.9%	PC判定基準	253	96.9%	MPIPC $\leq$ 19mmの場合MIC	12	4.6%
PISP	258	93.8%	PC判定基準	250	96.9%	MPIPC $\leq$ 19mmの場合MIC	10	3.9%
VRE (Vanタイプ不明)	212	77.1%	VCM、TEIC濃度で判定	197	92.9%	VREスクリーニング培地	8	3.8%
VRE (VanA)	98	35.6%	VCM、TEIC濃度で判定	96	98.0%	PCR	17	17.3%
VRE (VanB)	96	34.9%	VCM、TEIC濃度で判定	94	97.9%	PCR	16	16.7%
VRE (VanC)	83	30.2%	VCM、TEIC濃度で判定	79	95.2%	PCR	12	14.5%
VRE (その他のVanタイプ)	39	14.2%	VCM、TEIC濃度で判定	36	92.3%	PCR	2	5.1%

4. 薬剤感受性検査の問題点および課題

我々は、平成9年度より厚生労働科研費補助金により「日常検査における薬剤耐性菌の検出方法の確立および薬剤感受性検査の精度管理に関する研究」を行っている。この研究や JANIS 事業で得たデータなどから、以下の日常検査における問題点や課題を見出している。

a. MRSA におけるバンコマイシンの MIC 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の成績

カテゴリー判定は感性（S）であるが、VCM での治療が難しいとされている MIC 値 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の菌株の割合を測定方法別に検討した。全体での割合は 24.5%であったが、検査法によりばらつきが多く、特に AutoScan4 (41.2%) と MicroScan (31.0%)、VITEK (29.5%) は他法と比較し、MIC 値 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の株の頻度が高い結果となり、機種間差が疑える結果であった。

b. 集計方法別の薬剤感受性率の相違

JANIS 収集データの *E. coli* について、重複処理無しのデータ、同月同一患者初回検出株（外来、入院別）、対象期間同一患者初回検出株（入院、外来別）など7通りの集計結果について検討した結果、AMK 以外の8薬剤は最も感受性率が高かった集計方法は同月同一患者初回検出株（外来）を対象とした集計で、逆に最も感受性率の低かった集計方法は対象期間複数回検出患者最終検出株を対象とした集計であり、薬剤ごとの感受性率の差は2～18.4%であった。

c. CLSI のブレイクポイント変更に伴う影響

CLSI 法は毎年改訂が行われており、自動機器のバージョンアップまでに2～3年以上かかることや施設によってバージョンアップの時期が様々であることから、国内の施設での統一が出来ていない。特に、大きな改定が行われた場合は施設間での判定基準が異なり、カテゴリーによるサーベイランスにおいては大きな問題となっている。

2011年のJANISに報告されている機種別における *P. aeruginosa* の IPM の報告カテゴリーでは、マイクロスキャンおよびバイテックにおいて $\leq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$ と報告されている。このカテゴリーでは、BP 変更後の $\leq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$ も含まれ BP 変更の影響を調べることができない。そこで、BP 変更に影響を調査するうえで統計困難となる報告された BP の占める割合について調べてみると、マイクロスキャンでは IPM と MEPM で約 10%程度、バイテックでは IPM で 4.3%含まれることが分かった。したがって、影響を受ける報告 BP のない栄研ドライプレートにおいて BP 変更の影響について 2011年6月～8月のデータを用いた解析を行った結果、PIPC、IPM、MEPM でそれぞれ 12.8%、6.2%、8.0%の感受性率低下の影響を認めた。

d. MDRA 判定における薬剤による相違

IPM および MEPM とともに耐性（R）は 320 株、IPM（R）・MEPM（S）が 12 株、IPM（S）・MEPM（R）が 24 株であった。LVFX および CPFY とともに耐性（R）は 151 株、LVFX（R）・CPFY（S）が 0 株、LVFX（S）・CPFY（R）が 75 株であった（表3）。AMK および GM とともに耐性（R）は 216 株、AMK（S）・GM（R）が 309 株、AMK（R）・GM（S）が 13 株であった。以上、判定に用いる薬剤によって MDRA の判定が大きく異なる結果となった。

e. JANIS 公開データと日常報告データとの相違

JANIS 公開データは集計前にデータクリーニングに多くの時間を費やし、正確なデータのみを集計・解析している。しかし、JANIS 収集データは実際に報告されたデータであり、データが正しい、正しくないにかかわらず、臨床に報告され、感染症診断・治療に使用されたデータである。JANIS 公開データの平成 21 年 7 月～9 月の季報と同一期間の未クリーニングデータを集計し比較した結果、菌種と抗菌薬の組み合わせにより JANIS 公開データと集計データに差が認められた。

f. その他

測定機種別や施設間差による薬剤感受性率の相違などについても検討を行い、菌種と薬剤によっては大きな相違があることを確認している。

5. 薬剤感受性検査の精度管理について

a. 内部精度管理の実施状況

実施している施設は 47.1%の施設で、50.4%の施設では実施していなかった。実施している方法として、CLSI 法に基づき菌株等全てマニュアル通りに実施しているのは 3.9%の施設にすぎなかった。CLSI 法に準拠している施設は 33.0%であった。

また、施設規模別内部精度管理実施状況としては病床数の多い施設ほど実施率が高く、方法は CLSI 法に準拠した方法で実施されていた。

b. 外部精度管理実施状況

日本臨床衛生検査技師会主催コントロールサーベイおよび日本医師会コントロールサーベイの両者に参加している施設が 64.7%で最も多く、その他の施設はいずれかのコントロールサーベイに参加していた。

c. 精度管理に関する問題点

コストがかかる (61.5%) が最も多く、次いで手間がかかる (33.1%)、耐性の菌株が無い (32.7%)、標準株の入手が困難 (29.8%) などであった。

6. 多剤耐性菌を判定するための各種検査法とその注意点

微生物検査室で日常検査として実施できる検査法を下記に示した。しかし、いずれの方法もスクリーニングであったり、偽陽性や偽陰性、阻止円が不明瞭など、検査法の注意点を良く理解したうえで、導入する必要がある。また、これらの検査は診療報酬対象とはなっておらず、あくまでも薬剤感受性検査の範疇であることから、小規模施設での実施は難しい現状である。

なお、最終的な確定方法としては遺伝子検査による耐性遺伝子の検出である。しかし、一般の微生物検査室での実施は困難で、必要な場合は専門の機関に相談・依頼する必要がある。

a. ディスク法

CLSI の基準として、ESBL のスクリーニング法（第3セフェムに耐性）および確認試験（クラブラン酸による阻害）があるが、MBL、AmpC 型・KPC 型・OXA 型 β - ラクタマーゼの検出法の基準は無い。市販の耐性菌スクリーニングディスクとして、クラブラン酸含有 CPX, CAZ, CTX ディスク、E-test ESBL および MBL、メタロ - β - ラクタマーゼ SMA（メルカプト酢酸ナトリウム）ディスクなどがある。また、KPC 型の検出として Modifide Hodge test、AmpC 産生菌検出のためのボロン酸を用いた DDST（Double Disc Synergy Test）、ESBL、AmpC と MBL のスクリーニングとしてシカベータテストがある。

b. 微量液体希釈法

CLSI の基準として、ESBL のスクリーニング法（第3セフェムに耐性）および確認試験（クラブラン酸による阻害）がある。栄研ドライプレート DPD 1 を用いれば、ESBL および MBL のスクリーニングおよび確認試験が1枚のパネルで検査できる。また、主な自動機器には薬剤感受性パターンより耐性機序を推定するエキスパートシステムが搭載されている。

7. ま と め

薬剤耐性菌検査法の現状と問題点について、15年間の厚労科研費研究（新興・再興感染症研究、薬剤耐性菌）や JANIS 事業で得たものを中心に報告した。次々と新たな薬剤耐性菌が出現し報告されているが、微生物検査室での対応には限界がある。それぞれの施設においてどこまで検査するべきか、検査を行っているかを明確にし、臨床とのコミュニケーションにより感染症治療および院内感染対策に役立てる微生物検査を目指していくことが肝要である。

参考文献

- 1) 長沢光章（分担研究者）：日常検査における薬剤耐性菌の検出方法の確立および薬剤感受性検査の精度管理に関する研究～サーベイランスに用いる日常検査データの問題点と対策の検討～：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）新たな薬剤耐性菌の耐性機構の解明及び薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究，分担研究報告書2010、2011、2012
（共同研究者：佐藤智明／山形大学医学部附属病院、犬塚和久／JA 愛知厚生連、郡 美夫／東京医学技術専門学校、堀 光広／岡崎市民病院、静野健一／千葉市立海浜病院、柳沢英二／ミロクメディカルラボラトリー、大花 昇／福島県立医科大学）
（主任研究者：荒川宜親／名古屋大学大学院、柴山恵吾／国立感染症研究所）
- 2) 多剤耐性菌検査の手引き：日本臨床微生物学会ホームページ
<http://www.jscm.org/tazaitaisei/54.html>

米国における多剤耐性菌の現状と感染症治療の実際

ピッツバーグ大学医学部感染症内科

土 井 洋 平

■内容

1. はじめに	19
2. 肺炎球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	19
3. 黄色ブドウ球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	21
4. 腸球菌 <i>Enterococcus</i> spp.	22
5. 大腸菌 <i>Escherichia coli</i>	23
6. 肺炎桿菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	24
7. 緑膿菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
8. アシネトバクター・バウマニ <i>Acinetobacter baumannii</i>	25
9. おわりに	26
参考文献	27

1. はじめに

多剤耐性菌およびこれによる感染症は、複合的な要因（医療技術の高度化、ヒトおよび動物への抗菌薬の濫用、交通手段の発達、新規抗菌薬の枯渇など）により年々状況が悪化しており、現在では人類共通の課題として認識されつつある。これまで医療技術の革新をリードしてきた米国も例外ではなく、多剤耐性化した各種の病原菌が、病院、長期療養施設、そして市中に拡大している。ここでは、米国で問題となっている病原菌に焦点を当て、これらの疫学と感染症の予防、治療について紹介する。

2. 肺炎球菌 *Streptococcus pneumoniae*

肺炎球菌感染症は小児と高齢者に多く見られるが、侵襲性感染症（菌血症、髄膜炎など）は主に小児、特に2歳以下に好発する。90以上知られている肺炎球菌の血清型のうち、血清型1、3、4、5、6A、6B、7F、9V、14、18C、19A、19F、23Fが感染症の大半を占める。米国では2000年に小児用7価肺炎球菌ワクチン（PCV7；血清型4、6B、9V、14、18C、19F、23F）が導入されて以降、侵襲性肺炎球菌感染症が劇的に減少した。2004年までには、5歳未満の幼児で発症率が76%減少したほか、ワクチン接種対象外の高齢者でも38%減少した。¹これに合わせて、ペニシリン非感性菌による侵襲性感染症の発症率も大幅に低下した。2007年には、PCV7血清型は侵襲性肺炎球菌感染症全体の2%までに減少したが、その一方で、PCV7に含まれない一部

血清型、特に 19A による発症率は有意に上昇した（図 1）。²これは serotype replacement と呼ばれ、PCV7 血清型が減少した部分を非 PCV7 血清型が補う形で増加したと考えられる。血清型 19A は病原性が高い上に薬剤感受性が低い（幼児で 70%以上がペニシリン非感性、40%以上がマクロライド非感性）ことが問題とされる。実際、肺炎球菌全体の抗菌薬感受性は PCV7 導入後一旦改善したものの、その後は横ばいあるいは低下している。³

これらの問題に対応するため、米国では小児用 13 価肺炎球菌ワクチン（PCV13）が 2010 年に認可され、生後 2 ヶ月からの定期接種が奨励されている。また、成人用 23 価肺炎球菌ワクチン（PPSV）と併せ、免疫不全状態の成人への接種も奨励されている。PCV13 は PCV7 の血清型に加え、

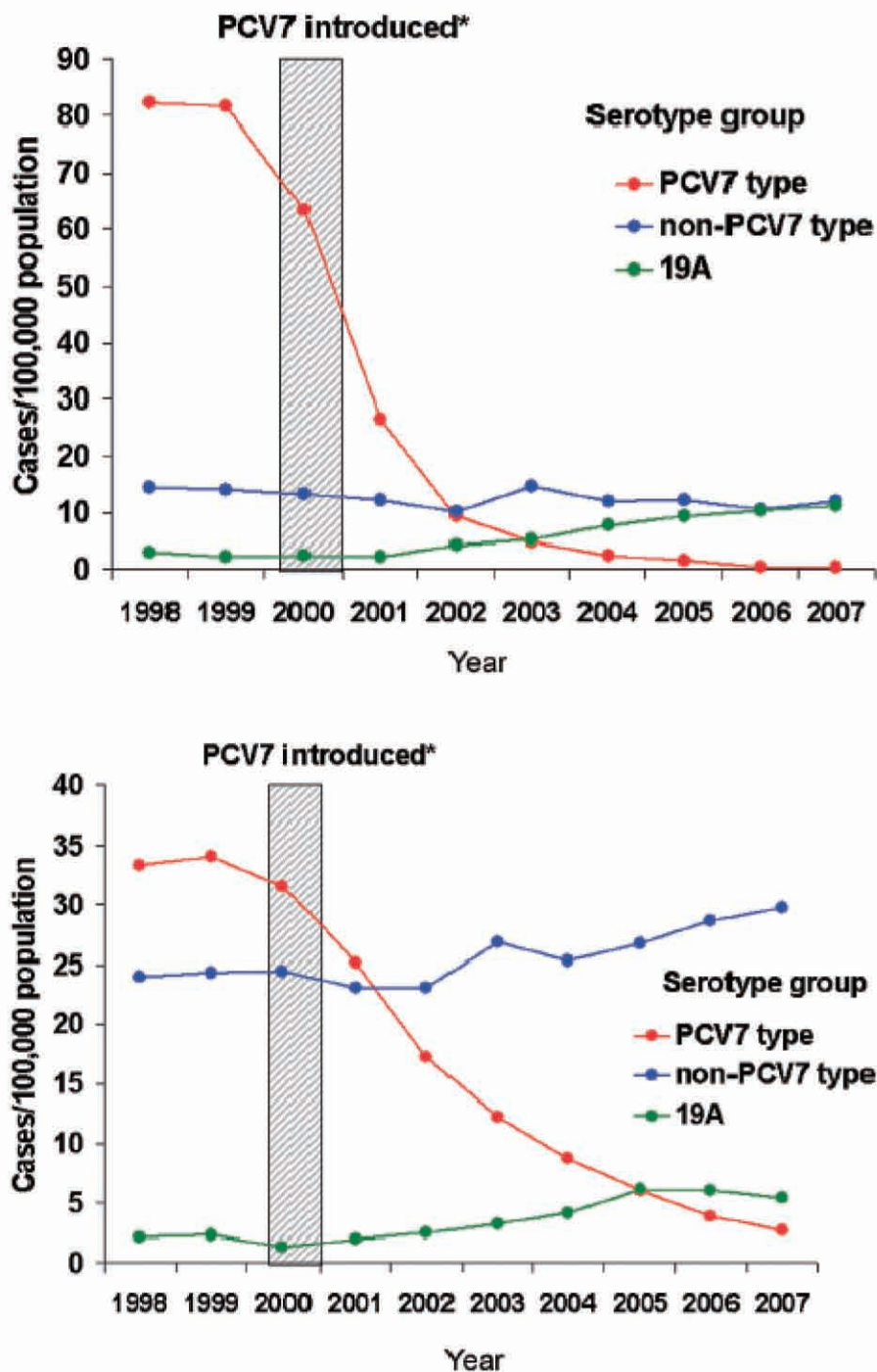


図 1 侵襲性肺炎球菌感染症の発症率。5 歳未満（上）と 65 歳以上（下）。引用文献²より抜粋。

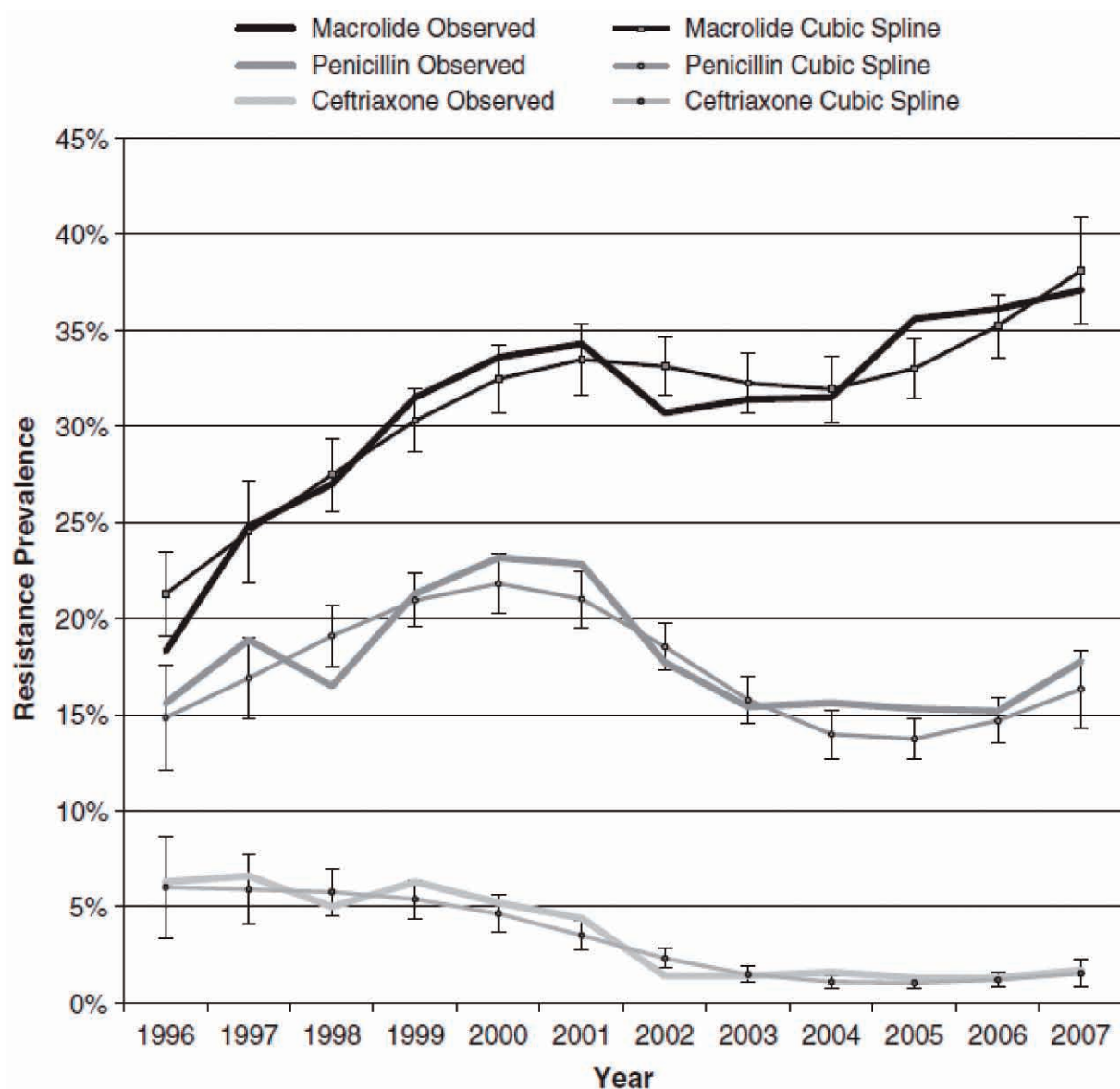


図2 米国における肺炎球菌の感受性年次推移。引用文献³より抜粋。

血清型 1、3、5、6A、7F、19A に対応し、これら血清型に対し PCV7 と同等の免疫原性があることから、侵襲性を含めた肺炎球菌感染症全体の発症率を更に低下させることが期待されている。

治療法については最近の大きな変化はなく、肺炎球菌が起炎菌と判明している場合、髄膜炎では第三世代セファロスポリンとバンコマイシンの併用、市中肺炎の場合はペニシリン G（ペニシリン感性的の場合）、第三世代セファロスポリンまたはフルオロキノロン（ペニシリン耐性的の場合）による治療が推奨されている。

3. 黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus*

黄色ブドウ球菌は、元来極めて良好な薬剤感受性を持つ菌種だったが、ペニシリナーゼによるペニシリン耐性の獲得、PBP2a によるメチシリン・オキサシリン耐性の獲得、さらにバンコマイシン低感受性菌の出現、と進化を続けてきた。現在米国の病院では医療関連感染症として最

も多く見られる菌種であり、内 50% 強がオキサシリン耐性 (ORSA, or MRSA) である。⁴ また、1990 年代前半より、医療関連の危険因子を持たない患者での市中感染症の発生が散見されていたが、1990 年代後半になって世界的に報告が相次ぐようになった。ただ、分子疫学的な検討から、これは単一のクローン (菌株) によるものではなく、世界各地で同時多発的にオキサシリン感性の市中菌が PBP2a を獲得し MRSA に進化したと考えられている (図 3)。⁵ 米国では ST8/USA300 と呼ばれる株が大半を占め、特に小児の皮膚・軟部組織感染症を好発させる。市中菌は一般に医療関連菌よりも非 β ラクタム薬への感受性がよいことから、治療に当たっての選択肢は

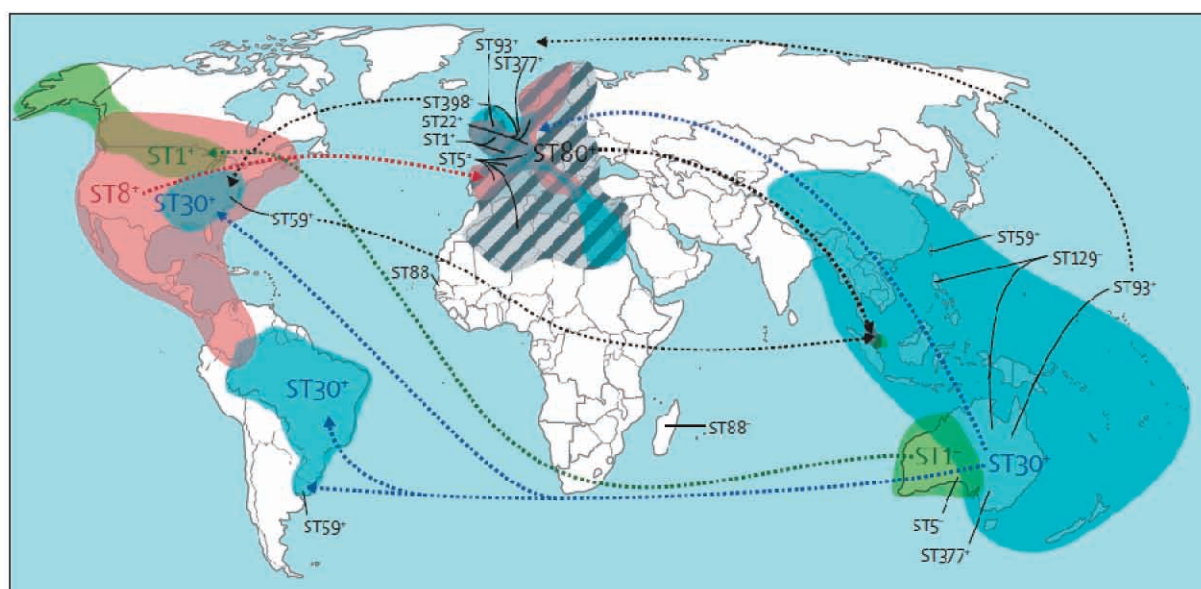


図 3 市中感染型 MRSA の ST 型の分布。引用文献⁵より抜粋。

比較的広い。

治療にあたっては、侵襲性の感染症 (菌血症、肺炎など) ではバンコマイシンを投与し、血中濃度をモニター (TDM) しつつ適切なトラフ濃度を維持するのが標準的である。⁶ MRSA による侵襲性感染症では治療効果が見られるまでに 1 週間程度掛かるのが通常であり、早期に治療薬を変更することは勧められない。それでも治療効果が見られない場合、感染巣の再検索、バンコマイシン MIC の測定を行い、必要があればダプトマイシン、リネゾリド、セフトロリンなどの代替薬に変更する。バンコマイシンの MIC が 2 mg/L 以上の際にすぐ代替薬に変更する必要があるか否かについては賛否が分かれており、現在のところはっきりした結論は得られていない。皮膚・軟部組織感染症の場合、単純性膿瘍のように排膿が可能であれば抗菌薬はほぼ不要との報告もあるが、⁷ 蜂窩織炎を併発していることも多く、一般には排膿と合わせて感受性のある抗菌薬 (ST 合剤、クリンダマイシン、ミノサイクリンなど) を投与し治療する。ST 合剤は尿路感染症の治療よりも高用量を投与する点に留意する。

4. 腸球菌 *Enterococcus* spp.

薬剤耐性の腸球菌として最も蔓延しているのがバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE)、特に *Enterococcus faecium* である。1980 年代末に西欧で出現し、1990 年代には全米の病院に広がった VRE は、現在では *E. faecium* の約 80%、*Enterococcus faecalis* の 10% を占めている。⁴ *E.*

faecium では CC17 型が 1980 年代前半から次第に薬剤耐性を獲得し世界的に拡散したことが示されている。

VRE 症例の多くは保菌のみだが、感染症としてはカテーテル関連菌血症、腹腔内感染症、尿路感染症、そして稀に心内膜炎などの病態を呈する。VRE に対してはリネゾリド、ダプトマイシン、チゲサイクリン、ニトロフラントインなどが抗菌活性を示すため治療に用いられているが、それぞれの抗菌薬の臨床的な効果についてははっきりした結論は出ていない。

5. 大腸菌 *Escherichia coli*

大腸菌は最もありふれた市中感染菌だが、同時にこの十年で最も薬剤耐性化が進んだ菌種のひとつと言える。特に、いわゆるレスピラトリーキノロンが導入されて以降、フルオロキノロンへの耐性が急激に増加している（図 4）。⁸この背景には、フルオロキノロンによる選択圧と、これに伴う ST131 型大腸菌の世界的な拡散がある。ST131 型の中でも特に *fimH30* と呼ばれるサブクローンがフルオロキノロン耐性株として疫学的に重要である（図 5）。⁹大腸菌ではこれまで、薬剤耐性度が高い株は病原性が弱く、病原性が強い株は耐性度が弱い傾向があったが、ST131 型は病原性が高くかつ耐性度も高いことがその世界的な拡散の要因であると考えられている。ST131 型は耐性プラスミドの獲得能に長けており、CTX-M 型 ESBL（特に CTX-M-14 および CTX-M-15）や CMY 型プラスミド性 AmpC、さらには KPC 型カルバペネマーゼなどの遺伝子を獲得し、セファロスポリン耐性、カルバペネム耐性を示すことがある。特に CTX-M 型 ESBL 産生 ST131 型大腸菌は市中感染症の新たな起炎菌として注目を集めている。¹⁰ただ、最近では ST131 型は市中感染症よりも医療関連感染症で更に多く見られるとの報告もあり、¹¹市中、病院を問わず優勢になりつつあると考えられる。米国では、医療関連感染症の起炎菌となった大腸菌の 20% 近くが 2010 年時点でセファロスポリン耐性となっている。⁴

耐性の増加に伴い、大腸菌感染症に第一選択だったフルオロキノロンの有用性が損なわれているほか、ST 合剤の耐性率も ST131 型を中心に上昇している。このため、尿路感染症に対する経

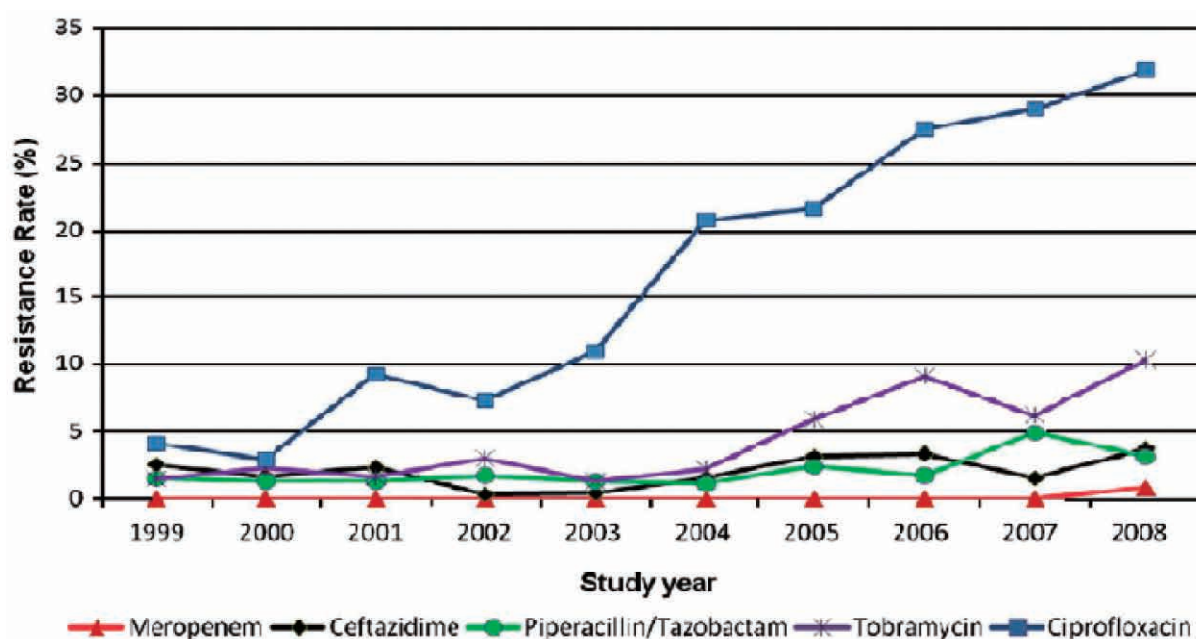
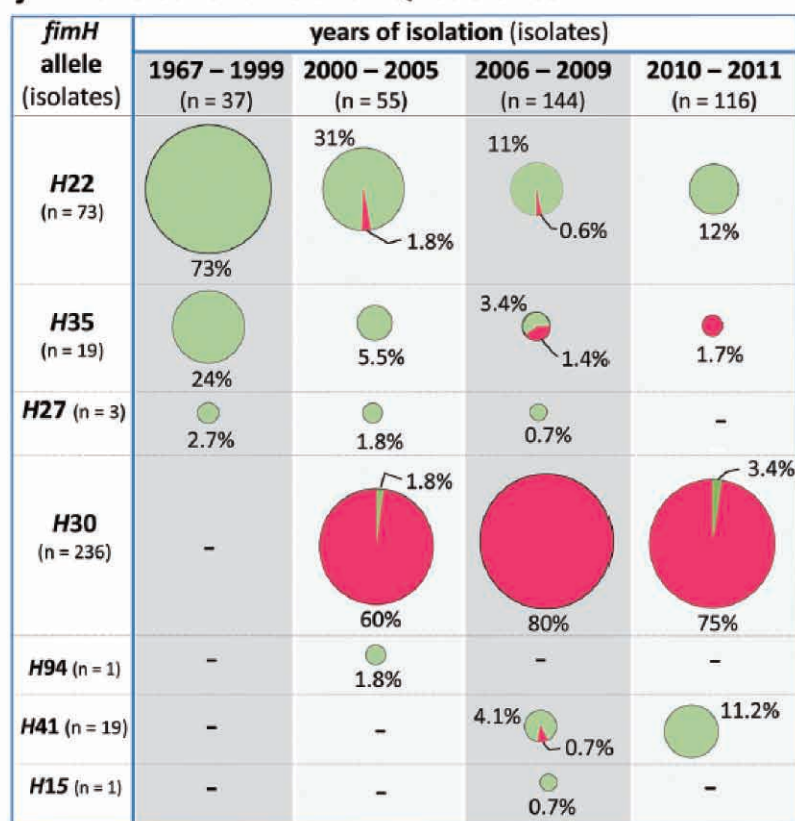


図 4 米国の病院での大腸菌の薬剤耐性率の年次推移。引用文献⁸より抜粋。

A *fimH* alleles vs. time and FQ resistance



B *fimH* vs. *gyrA*/*parC*

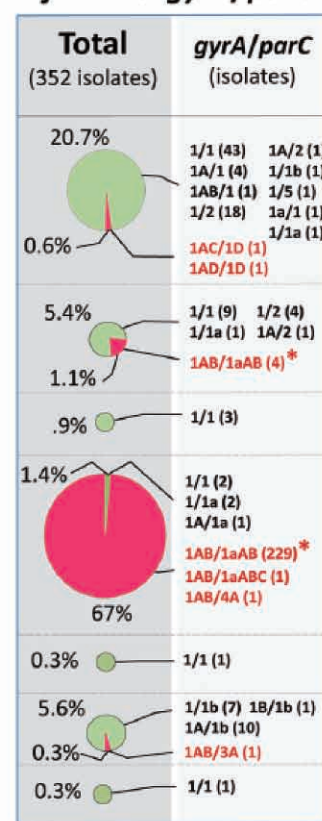


図5 米国で検出されたST131型大腸菌における *fimH* タイプとフルオロキノロン耐性率の年次推移。引用文献⁹より抜粋。

口薬としてはβラクタム・βラクタマーゼ合剤、セファロスポリン、ホスホマイシンなどを用いることになる。ESBL 産生菌の場合はセファロスポリンが無効であることから、菌血症などの重症例ではカルバペネムが第一選択となる。最近になってβラクタム・βラクタマーゼ合剤、特にピペラシリン・タゾバクタムがESBL 産生大腸菌による菌血症でカルバペネムと遜色ない有効性を示すとのデータが示されている。¹²

6. 肺炎桿菌 *Klebsiella pneumoniae*

米国では KPC 産生菌の増加による肺炎桿菌のカルバペネム耐性化が著しい。KPC 型カルバペネマーゼを産生する肺炎桿菌は 1990 年代後半に初めて発見されたが、これが 2000 年代初頭になりニューヨーク市内の病院で複数の集団感染を起こしたことから注目された。その後近隣のニュージャージー州、ペンシルバニア州などに広がり、現在では全米各州から報告されている（図6）。ただ、分離頻度でみるとニューヨーク州を含む北東部で高く、南部と西部では低い傾向が続いている。分子疫学的には ST258 型が大半を占めるが、KPC 遺伝子を担っているプラスミドの種類は多様であることが分かってきている。

病態で重篤なものとしては菌血症、院内肺炎、腹腔内感染症、軽症のものとしては尿路感染症（特にカテーテル関連）が多い。菌血症の死亡率は 40% を上回る一方、尿路感染症の予後は極めてよい。菌血症の治療にはコリスチンを含む多剤併用療法（カルバペネム、チゲサイクリン、ゲンタマイシンなど）により死亡率が低下することが複数の研究で示されている。¹³ また、コリス

表1 2010年に米国の病院から分離されたアシネトバクター属の感受性。引用文献より抜粋。

Susceptibility of *Acinetobacter* isolates (N = 514) to antimicrobial agents.

Antimicrobial agent	MIC Range (μg/mL)	MIC ₅₀	MIC ₉₀	%S	%I	%R
Doripenem	0.03->32	8	>32	46.7	^a	
Imipenem	0.03->32	4	>32	51.0	4.3	44.7
Meropenem	0.03->32	8	>32	49.2	1.8	49.0
Levofloxacin	≤0.06->128	8	32	41.1	6.6	52.3
Ceftazidime	0.5->128	32	>128	44.7	3.1	52.1
Colistin	0.12->32	1	2	94.7	0.0	5.3
Tobramycin	≤0.12->64	2	>64	57.6	3.5	38.9
Piperacillin/tazobactam	≤0.25->128	128	>128	38.9	6.6	54.5

^a Blank cells indicate FDA and CLSI breakpoints are unavailable for interpretation of intermediate (I) and/or resistant (R).

義される株の割合は、1995年には20%程度だったものが2004年には40%を超え、2007年には60%に達している。特にカルバペネム耐性は2010年には50%近くに達しているが(表1)、¹⁶これはアシネトバクター属で見た場合であり、*A. baumannii*に限ってみると更に高いと考えられる。この現象の背景には(1)獲得性カルバペネマーゼ産生菌の増加、(2)特定クローンの広範な流行、の二点がある。獲得性カルバペネマーゼとしては、OXA型と呼ばれる、ペニシリンとカルバペネムを分解するβラクタマーゼが広がっており、米国ではそのうちのOXA-23型と呼ばれるカルバペネマーゼが圧倒的に多く、これにOXA-40が続く。薬剤耐性のクローンとしては、CC1、CC2(CC92とも)が世界的に分布しており、米国ではCC92-OXA-23の組み合わせが最もよく見られる。

病態としては医療環境での呼吸器系感染症、すなわち人工呼吸器肺炎の頻度が高く、かつ治療が難しい。カルバペネムに感性的な場合はカルバペネムでの治療が標準的だが、カルバペネムに耐性菌の治療に関しての知見は乏しく、経験的に様々な組み合わせが用いられている。もっとも一般的に用いられる組み合わせはコリスチンとリファンピシン、あるいはコリスチンとカルバペネムだが、これらについても微生物学的に相乗作用や相加作用があることがその根拠であり、単剤による治療に比べ治療効果が優れるかどうかははっきりしていない。特にリファンピシンについては、大規模な無作為割付の臨床試験を行ったところ、コリスチンに加えて投与しても死亡率が改善しなかった、との結果が最近イタリアから発表されている。¹⁷肺炎の場合には、これに加えてコリスチンのプロドラッグであるコリスチンメタンスルホン酸の吸入もよく行われるが、これも有効性ははっきりしていない。

9. おわりに

米国でも、多剤耐性菌をめぐる環境は急激に深刻化している。1990年代までは主にグラム陽性菌が問題とされ、これに対応する治療法、治療薬が開発されてきた。21世紀に入り、課題は

グラム陰性菌へと大きくシフトしている。特にカルバペネム耐性菌の増加により、臨床現場は治療困難な耐性菌感染症に日々相対せざるをえない状況になっているが、治療法、治療薬についてはグラム陽性菌の際のように開発が追いついていない。ここにきて連邦政府もようやく多剤耐性菌問題への取り組みを強化し始めているが、具体的な成果が期待できるまでには年数を要するため、今後しばらくは綱渡りのような状況が続くと思われる。

引用文献

1. Hicks LA, Harrison LH, Flannery B, Hadler JL, Schaffner W, Craig AS, Jackson D, Thomas A, Beall B, Lynfield R, Reingold A, Farley MM, Whitney CG. Incidence of pneumococcal disease due to non-pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) serotypes in the United States during the era of widespread PCV7 vaccination, 1998-2004. *J Infect Dis*. 2007;196(9):1346-1354.
2. Pilishvili T, Lexau C, Farley MM, Hadler J, Harrison LH, Bennett NM, Reingold A, Thomas A, Schaffner W, Craig AS, Smith PJ, Beall BW, Whitney CG, Moore MR, Active Bacterial Core Surveillance/Emerging Infections Program N. Sustained reductions in invasive pneumococcal disease in the era of conjugate vaccine. *J Infect Dis*. 2010;201(1):32-41.
3. Mera RM, Miller LA, Amrine-Madsen H, Sahm DF. The impact of the pneumococcal conjugate vaccine on antimicrobial resistance in the United States since 1996: evidence for a significant rebound by 2007 in many classes of antibiotics. *Microb Drug Resist*. 2009;15(4):261-268.
4. Sievert DM, Ricks P, Edwards JR, Schneider A, Patel J, Srinivasan A, Kallen A, Limbago B, Fridkin S, National Healthcare Safety Network T, Participating NF. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013;34(1):1-14.
5. DeLeo FR, Otto M, Kreiswirth BN, Chambers HF. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*. 2010;375(9725):1557-1568.
6. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, Kaplan SL, Karchmer AW, Levine DP, Murray BE, M JR, Talan DA, Chambers HF, Infectious Diseases Society of A. Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin Infect Dis*. 2011;52(3):e18-55.
7. Rajendran PM, Young D, Maurer T, Chambers H, Perdreau-Remington F, Ro P, Harris H. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of cephalexin for treatment of uncomplicated skin abscesses in a population at risk for community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(11):4044-4048.
8. Rhomberg PR, Jones RN. Summary trends for the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection Program: a 10-year experience in the United States (1999-2008). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009;65(4):414-426.
9. Johnson JR, Tchesnokova V, Johnston B, Clabots C, Roberts PL, Billig M, Riddell K, Rogers P, Qin X, Butler-Wu S, Price LB, Aziz M, Nicolas-Chanoine MH, Debroy C, Robicsek A, Hansen G, Urban C, Platell J, Trott DJ, Zhanel G, Weissman SJ, Cookson BT, Fang FC, Limaye AP, Scholes D, Chattopadhyay S, Hooper DC, Sokurenko EV. Abrupt emergence of a single dominant multidrug-resistant strain of *Escherichia coli*. *J Infect Dis*. 2013;207(6):919-928.
10. Rogers BA, Sidjabat HE, Paterson DL. *Escherichia coli* O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66(1):1-14.
11. Banerjee R, Johnston B, Lohse C, Porter SB, Clabots C, Johnson JR. *Escherichia coli* sequence type 131 is a dominant, antimicrobial-resistant clonal group associated with healthcare and elderly hosts. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013;34(4):361-369.

12. Rodriguez-Bano J, Navarro MD, Retamar P, Picon E, Pascual A, Extended-Spectrum Beta-Lactamases-Red Espanola de Investigacion en Patologia Infecciosa/Grupo de Estudio de Infeccion Hospitalaria G. beta-Lactam/beta-lactam inhibitor combinations for the treatment of bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: a post hoc analysis of prospective cohorts. *Clin Infect Dis*. 2012;54(2):167-174.
13. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Trecarichi EM, Tumietto F, Marchese A, Spanu T, Ambretti S, Ginocchio F, Cristini F, Losito AR, Tedeschi S, Cauda R, Bassetti M. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis*. 2012;55(7):943-950.
14. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Paterson DL, Shoham S, Jacob J, Silveira FP, Forrest A, Nation RL. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(7):3284-3294.
15. Vardakas KZ, Tansarli GS, Bliziotis IA, Falagas ME. beta-Lactam plus aminoglycoside or fluoroquinolone combination versus beta-lactam monotherapy for *Pseudomonas aeruginosa* infections: a meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;41(4):301-310.
16. Queenan AM, Pillar CM, Deane J, Sahm DF, Lynch AS, Flamm RK, Peterson J, Davies TA. Multidrug resistance among *Acinetobacter* spp. in the USA and activity profile of key agents: results from CAPITAL Surveillance 2010. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;73(3):267-270.
17. Durante-Mangoni E, Signoriello G, Andini R, Mattei A, De Cristoforo M, Murino P, Bassetti M, Malacarne P, Petrosillo N, Galdieri N, Mocavero P, Corcione A, Viscoli C, Zarrilli R, Gallo C, Utili R. Colistin and rifampicin compared with colistin alone for the treatment of serious infections due to extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: A multicenter, randomized clinical trial. *Clin Infect Dis*. 2013.

見えない新たな脅威

CRE (Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*)

分子病原細菌学／耐性菌制御学分野

基礎医学領域 微生物・免疫学講座

名古屋大学大学院医学系研究科

荒 川 宜 親

■内容

はじめに	30
1. CRE とは何か	30
2. これまでのカルバペネム耐性菌の特長	30
3. なぜ CRE が問題なのか	30
a. 市中感染症の原因にもなり得る CRE	30
b. CRE による血流感染症では半数が死亡する	30
c. CRE は、日常的な薬剤感受性試験では見落とされる危険性がある	31
4. 肺炎桿菌や大腸菌がカルバペネム耐性を獲得した経緯	31
a. 第三世代セファロスポリン耐性の獲得	31
b. プラスミド媒介性の AmpC の獲得	31
c. プラスミド媒介性のカルバペネマーゼの獲得	32
d. 日本では、メタロ - β - ラクタマーゼ産生株がいち早く出現	32
5. カルバペネマーゼにはどのような種類があるか	34
a. MBL (メタロ - β - ラクタマーゼ)	34
b. KPC 型カルバペネマーゼ	34
c. OXA-48型カルバペネマーゼ	34
6. カルバペネマーゼを産生しないカルバペネム耐性株	35
7. 我が国における CRE の分離状況	35
8. 今後注目すべきカルバペネマーゼ	35
a. 新型 MBL	35
b. GES-5、GES-14、GES-18などのクラスA カルバペネマーゼ	35
9. 多剤耐性株と特定の遺伝子型の関連性	36
10. CRE は市中感染症、さらに強毒細菌による感染症でも問題となる恐れがある	36
11. CRE を検出するにはどのようにしたら良いか	36
おわりに	37
参考文献	37

はじめに

2013年3月5日に米国CDCが、CRE (Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*) について「deadly bacteria」、「nightmare bacteria」という言葉を用いて全米に警告を発した(1)ことは記憶に新しい。今なぜCREがそれほど注目や警戒されているのかについて解説する。

1. CRE とは何か

CREとは、文字通りチエナム(イミペネム&シラスタチン)やメロペン(メロペネム)、フィニバックス(ドリペネム)などのカルバペネム系抗菌薬に耐性を獲得した腸内細菌科の菌種を意味し、肺炎桿菌(*Klebsiella pneumoniae*)や大腸菌(*Escherichia coli*)がその大半を占める。その他、セラチア(*Serratia*)属、エンテロバクター(*Enterobacter*)属、シトロバクター(*Citrobacter*)属、プロテウス(*Proteus*)属などにもカルバペネム耐性を獲得した株が散見されており、それらを含め、CREと総称されている。

2. これまでのカルバペネム耐性菌の特長

カルバペネム系薬はこれまでは点滴薬が中心であったため主に入院患者に処方されてきた。そのためカルバペネムに対する耐性は、これまでは主に緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)やその近縁の*Pseudomonas putida*、*Pseudomonas fluorescens*などの*Pseudomonas*属、アシネトバクター属の菌種(*Acinetobacter* spp.)、特に*Acinetobacter baumannii*などの菌種で問題視されてきた。これらの菌種は、主に医療現場における感染症、いわゆる院内感染症で問題となることは多いが、日常生活をおくっている一般人にとっては感染症の起因菌となることは稀であった。

一方、腸内細菌科の菌種では、一時的にカルバペネム耐性菌が散発的に検出される事はあるものの、院内感染を引き起こすことは稀であった。

3. なぜCREが問題なのか

a. 市中感染症の原因にもなり得るCRE

肺炎桿菌や大腸菌などの菌種は、ヒト腸管の常在細菌叢を構成する菌種であり、ヒト腸管に定着しやすい。また、この種の菌は、院内感染症のみならず、細菌感染症に対する防御システムがほぼ正常に保たれている人々で問題となることがあり、例えば、高齢者の肺炎や成人の尿路感染症の原因となることが多い菌種であり、市中感染症の起因菌としても問題となるからである。

b. CREによる血流感染症では半数が死亡する

カルバペネム耐性を獲得した肺炎桿菌や大腸菌は、同時に、フルオロキノロン系やアミノグリコシド系の薬剤にも多剤耐性を獲得していることが多く、それらが感染症の原因となった場合、抗菌薬による治療が困難となるからでもある。これまでの、米国や欧州におけるCRE感染症患者の治療成績から、CREが血液中に侵入し血流感染症の原因となった場合は、前述した理由から抗菌薬による治療ができず、患者の予後の悪化を招き、場合によっては半数が死亡すると警告

されているからである（2-4）。

c. CRE は、日常的な薬剤感受性試験では見落とされる危険性がある

CRE か否かを判別するもっとも一般的な方法は、CLSI などが推奨する方法で、薬剤感受性試験をすることである。しかし、これまでに国内外で臨床分離された NDM-1 産生株や KPC 産生株に対する薬剤感受性試験の結果を見た場合、これらの株に対し、IPM や MEPM の MIC 値が必ずしも「耐性：R」の範疇にならず、「感性：S」や「中間：I」と判定される場合も少なくない。事実、2010 年に関東地区で分離された NDM-1 産生株に対する IPM や MEPM の MIC は、「感性：S」や「中間：I」と判定されている。万一、それらを初期の段階で検出に失敗した場合、気が付かれないまま、病院内に広がっていた恐れがある。

4. 肺炎桿菌や大腸菌がカルバペネム耐性を獲得した経緯

肺炎桿菌は染色体上にペニシリナーゼの遺伝子を持っているため、アンピシリンなどのペニシリン系薬に自然耐性を示すことはよく知られている（5）。一方、大腸菌は、染色体上にセファロスポリナーゼ（AmpC 型）の遺伝子を持っているが、その遺伝子の発現を制御するプロモーター部位などが欠落しているため、AmpC が産生されず（6）、通常は、アンピシリンに感受性を示す。つまりこれらの菌種は、通常では、セフェム系やカルバペネム系を分解できる β -ラクタマーゼ（セファロスポリナーゼ）を産生せず、これらの薬剤に感受性を示すのが特徴である。

a. 第三世代セファロスポリン耐性の獲得

1980 年代に入ると医療現場で各種のセファロスポリン系抗生物質が開発され広く利用されるようになった。そこで、肺炎桿菌や大腸菌などの菌種は、セファロスポリン系薬が多用される医療環境を生き延びるため、1980 年代に TEM- 由来 ESBL（基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ）や SHV- 由来 ESBL の遺伝子を獲得し、さらにその後、CTX-M 型 β -ラクタマーゼの遺伝子を獲得した（7）。その結果、1990 年頃からセフトキシムやセフトジジムなどの第三世代セファロスポリンに対する耐性を獲得した肺炎桿菌や大腸菌が世界的に蔓延し始めた。また、エンテロバクター属やシトロバクター属、セラチア属などの腸内細菌科の菌種や *Pseudomonas* 属などは、種々の方法で染色体性の AmpC の産生量を増加させることで、セファロスポリンへの耐性度を上昇させ（8）、医療環境で生き延びるに成功した。

b. プラスミド媒介性の AmpC の獲得

ESBL の産生や AmpC の過剰産生能力を獲得したセファロスポリン耐性グラム陰性桿菌の増加に対抗する為、人類は、種々の ESBL や AmpC では分解され難いセファマイシン系やオキサセフェム系薬を臨床現場で使用するようになった。染色体性の AmpC を産生できない肺炎桿菌や大腸菌はそのような困難な環境を生き延びるため 1990 年代には、CMY 型や DHA 型などのプラスミド媒介性 AmpC（pAmpC）の遺伝子を新たに獲得することに成功した（9）。CMY 型のセファロスポリナーゼは、通常では構成性（constitutive）に常時一定量の酵素が産生され、セファロスポリン系のみならず一部のセファマイシンやオキサセフェムに対する耐性も付与する。一方、DHA 型の遺伝子は、その発現を調節する AmpR の遺伝子とともにプラスミド上にセットで存在

する為、誘導型の産生様式を示し、 β -ラクタム薬や β -ラクタマーゼ阻害剤の存在下で、DHA型セファロスポリナーゼの産生が増加し、耐性度が上昇するという減少が観察される。

c. プラスミド媒介性のカルバペネマーゼの獲得

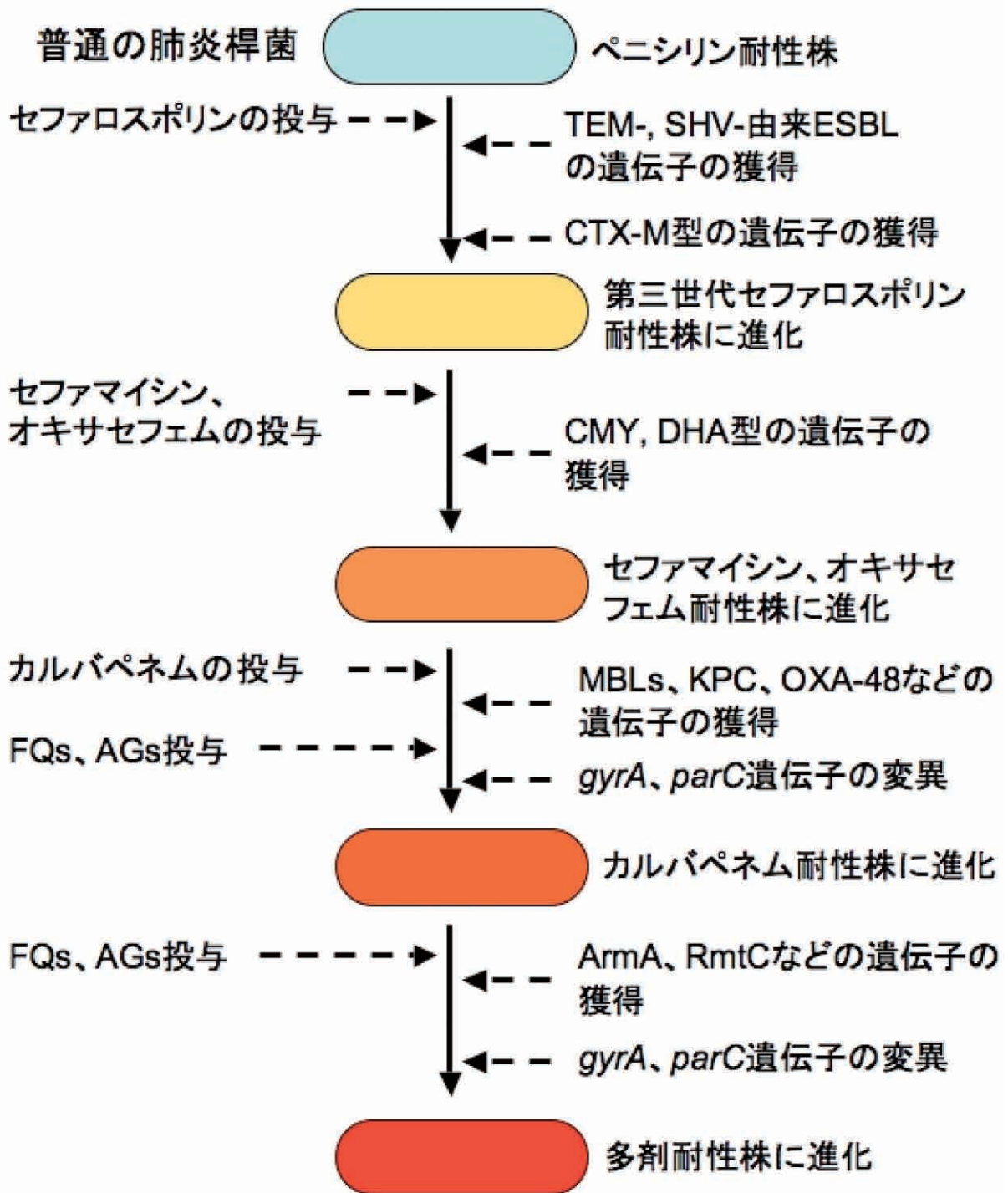
pAmpC を産生する肺炎桿菌や大腸菌であっても、イミペネムやメロペネムなどのカルバペネム系の薬剤には対抗できない。そこで、我が国では 1980 年代より、欧米でも 1990 年代からカルバペネム系薬が使用されるようになった。細菌はそのような過酷な環境を生き延びるため、1990 年代の終わりには米国で KPC-2 型カルバペネマーゼ (10)、2001 年にはトルコで OXA-48 型カルバペネマーゼの遺伝子を獲得した株が相次いで出現した (11)。また、少し遅れて 2000 年代の半ば頃から、NDM-1 型 MBL を産生する肺炎桿菌が、途上国であるインド／パキスタン地域で出現した (12) と考えられている。

d. 日本では、メタロ- β -ラクタマーゼ産生株がいち早く出現

我が国では、ESBL 産生菌が広がる以前の 1980 年代から、世界に先駆けてセファマイシン系やオキサセフェム、カルバペネム系の薬剤が賞用されてきた影響もあってか、それらを分解できない ESBL を産生する肺炎桿菌や大腸菌は、欧米のように広がらず、逆に 1990 年代には、プラスミド媒介性のメタロ- β -ラクタマーゼ (MBL: metallo- β -lactamase) である IMP-1 を産生するカルバペネム耐性セラチアや緑膿菌がいち早く出現 (13, 14) し、その点において欧米と

表 肺炎桿菌や大腸菌が獲得したカルバペネマーゼと特徴

カルバペネマーゼの名称	特徴
NDM-1に代表される NDM 型	酵素活性に亜鉛を必要とするメタロ- β -ラクタマーゼ (MBL) (クラス B) インド／パキスタン地域から近隣諸国、欧州、中東／バルカン地域、アフリカ、アジア、オセアニアに拡散、北米、南米にも侵入。 我が国では稀。
(VIM-2、IMP-1) 肺炎桿菌では比較的稀。	主に緑膿菌やアシネトバクター属菌で産生される。 NDM-1と同じ MBL に属する。 VIM-2は欧州地域に多く、IMP-1は日本を含むアジア地域に多い傾向が見られるが、両者とも全世界に拡散。
KPC-2に代表される KPC 型	酵素の活性中心にセリン残基を有するセリン型カルバペネマーゼ (クラス A) 米国／カナダで蔓延。欧州にも拡散。イスラエルでも多い。 中国でも東沿岸地域で蔓延。 我が国では稀。
GES-5などの GES 型	KPC 型と同様に酵素の活性中心にセリン残基を有するセリン型カルバペネマーゼ (クラス A) GES-5は肺炎桿菌から検出されている。 (GES-14、GES-18は緑膿菌等からであり、腸内細菌科の菌種からは今のところ報告は無い。)
OXA-48 OXA-181	酵素の活性中心にセリン残基を有するセリン型カルバペネマーゼ (クラス D) OXA-48は、トルコ、地中海沿岸諸国、ベルギーを含む欧州各国に拡大 OXA-181は OXA-48の変種。インドやその近隣諸国、オセアニアなどに拡散。 OXA-48や OXA181は、我が国では稀。



特定の肺炎桿菌が多剤耐性株に進化したステップ

かなり様相が異なっていた。

5. カルバペネマーゼにはどのような種類があるか

カルバペネマーゼとは、文字通り、イミペネムやメロペネムなどのカルバペネム系薬を分解する能力を有する β - ラクタマーゼの総称であり、古くから有名なものとしては、前述した MBL が挙げられる。その後、KPC 型や OXA-48 などが出現し、最近では、新型 MBL である NDM-1 が出現した。

a. MBL (メタロ - β - ラクタマーゼ)

MBL は、酵素活性の発現に亜鉛を必要とする金属酵素 (metallo enzyme) であるため、そのように呼ばれている。腸内細菌科の菌種から世界で最初に発見されたプラスミド媒介性の MBL は IMP-1 であり、1991 年に愛知県で分離されたセラチアから筆者の研究グループが発見した (13)。1980 年代の後半に分離された伝達性のカルバペネム耐性を示す緑膿菌が報告されていた (15) が、その後の研究から IMP-1 を産生する株であることが確認された。欧州では、我々の分離から数年遅れて、1997 年にイタリアで分離された緑膿菌から VIM-1 が発見され (16)、その後フランスからは 1996 年に分離された緑膿菌から VIM-2 が発見された (17)。それに引き続き、GIM-1 がドイツ、SIM-1 が韓国で発見され、SPM-1 もブラジルで発見されたが、これらを産生する菌種としては、腸内細菌科ではなく、緑膿菌などのブドウ糖非発酵菌群に属する菌種が多かった。また、GIM-1 や SIM-1 産生株は世界的には拡散しておらず、SPM-1 は南米地域に多いがその他の地域では殆ど分離されないという特徴が見られる。

2000 年代に入ると 2007 年にスウェーデン在住のインド人がインドを訪問した際に発症した創部からカルバペネム耐性を獲得した肺炎桿菌が分離され NDM-1 と命名された新型の MBL を産生していることが 2009 年に報告された (12)。その後、NDM-1 を産生する肺炎桿菌などがインド・パキスタン地域から、英国 (18) や欧州各国、中東・バルカン地域、アジア、オセアニア、アフリカ、さらに北アメリカ、南米地域へと広がりつつある (19)。

b. KPC 型カルバペネマーゼ

KPC 型カルバペネマーゼは、酵素の活性中心にセリン残基を有し、ESBLs と同じくクラス A に属する β - ラクタマーゼである。KPC 型カルバペネマーゼを産生する肺炎桿菌は、1990 年代の後半にノースカロライナ州やメリーランド州 (20)、その近傍のアメリカの東海岸地域の医療機関に入院していた患者から最初に検出されたが、2000 年代に入ると全米に広がり始め (21)、2012 年には米国内の 42 州の病院等で検出される状況に陥り、2013 年 3 月に米国 CDC の長官が自ら全米に対し注意喚起と警告を発する (1) 事態となっている。また、KPC 産生株は、米国外では、イスラエル、ギリシャ、欧州各国、南米、中国東海岸 (浙江省、江蘇省、上海、香港) などに拡散しつつある (22)。

c. OXA-48 型カルバペネマーゼ

OXA-48 カルバペネマーゼは、KPC 型と同様に酵素の活性中心にセリン残基を有する β - ラクタマーゼであるが、分子量がやや小さくクラス D に属する。2001 年にトルコで分離されたイミ

ペネム耐性肺炎桿菌からフランスのパスツール研の研究グループにより最初に発見された (11)。その後、しばらくの間はあまり注目されなかったが、2009 年あたりからベルギーやフランス、スペインなどの欧州全域に広がり始め、さらにアジア、地中海沿岸諸国、南アフリカ、カナダを含む北アメリカなど世界各国に拡散しつつある (23)。なお、OXA-48 の変種である OXA-181 は、インドやその近隣諸国、さらに世界各国に侵淫しつつある (24)。

6. カルバペネマーゼを産生しないカルバペネム耐性株

近年、CRE に注目が集まっているが、MBLs や KPC、OXA-48 などのカルバペネマーゼを産生しない肺炎桿菌や大腸菌、エンテロバクター属菌などの臨床分離株が国内で散見されるようになった。これらの株に対する IPM の MIC 値は、せいぜい $16 \sim 32 \mu\text{g/ml}$ 程度であるが、CRE との鑑別が必要になってくる。この種の株は、多くの場合、DHA 型、CMY 型などのプラスミド媒介性セファロスポリナーゼあるいは染色体性の AmpC を過剰産生し、さらに細菌外膜に存在する特定の蛋白（ポーリン）が減少や欠失することで、カルバペネムに低感受性や耐性を獲得している (25-27)。特定のカルバペネマーゼを産生しないが、それらが感染症の起因菌になった場合、おそらくカルバペネムによる治療に抵抗することが予想されるため、CRE と同様にその動向については、注意深く監視して行く必要があると考えられる。

7. 我が国における CRE の分離状況

平成 24 (1012) 年度末までの国内における CRE の分離状況は、国立感染症研究所の病原微生物検出状況 (IASR) (28) にまとめられている。それによると、NDM-1 産生株が 5 株（肺炎桿菌 4 株、大腸菌 1 株、*Acinetobacter baumannii* 1 株）となっており、そのうちの 4 件が、インドと関連性がある。KPC 型カルバペネマーゼ産生株については、6 件が確認されているが、前例が肺炎桿菌からであり、海外との関連性は、北米、中国、インド等である。

また、2012 年の終わりにアジア地域から帰国した患者から OXA-48 を産生する肺炎桿菌が分離されており (29)、その後、2013 年 6 月にアジア地域から来日した外国人患者から NDM-1 と OXA-181 (OXA-48 の変種) を同時に産生する肺炎桿菌が分離されている。

8. 今後注目すべきカルバペネマーゼ

a. 新型 MBL

NDM-1 の出現以降新たに検出されたカルバペネマーゼとして SMB-1 (30)、FIM-1、TMB-1、TMB-2 などがある。SMB-1 はセラチアから検出されているが、FIM-1、TMB-1、TMB-2 は、それぞれ、緑膿菌、*Achromobacter* 属、*Acinetobacter* 属から検出されている。しかし、これらの遺伝子は、各種の mobile element や伝達性 plasmid により媒介されているため、今後、腸内細菌科の菌種にも伝達、拡散し、新しい CRE の出現の背景となる可能性があり、注意を要する。

b. GES-5、GES-14、GES-18などのクラス A カルバペネマーゼ

クラス A に属するカルバペネマーゼとしては、前述したように KPC 型が地球規模で広がりつ

つある。一方、古くから SME-1、NMC-A などが知られていたが、これらは、臨床現場では今のところ、蔓延していない。その他、GES 型の中では、GES-5 や GES-14、GES-18 などの GES 型カルバペネマーゼが 2000 年代後半から、新たに注目され始めている。GES-5 は、これまでのところ肺炎桿菌 (31) や緑膿菌から、GES-14 は、*A. baumannii* (32)、GES-18 は緑膿菌 (33) から検出されており、今後の動向を監視する必要がある。

9. 多剤耐性株と特定の遺伝子型の関連性

CRE 化した肺炎桿菌や大腸菌の株の遺伝的背景を MLST 解析により詳しく解析すると、KPC 型カルバペネマーゼを産生する肺炎桿菌は ST258 と判定される株が多く、NDM-1 産生株では ST14 や ST11、ST147 などが多い傾向が見られる。また、OXA-48 や OXA-181 を産生する株では、ST11 や ST14、ST17 などしばしば確認される傾向がある。一方、NDM-1 を産生する大腸菌では ST101 などが多い。これらの事実から、菌種毎に特定の遺伝子型とそれらが保有している耐性遺伝子の強い関連性が浮かび上がってくる。

10. CRE は市中感染症、さらに強毒細菌による感染症でも問題となる恐れがある

前述したように、カルバペネム系抗生物質を分解する種々のカルバペネマーゼやそれらを産生する多様なグラム陰性桿菌が出現し蔓延しつつある。カルバペネム耐性を獲得した腸内細菌科の菌種は、多くの場合、フルオロキノロン系、アミノ配糖体系の抗菌薬にも多剤耐性を獲得しており、このことは、多剤耐性菌の問題が、病院内に留まらず、今後、市中感染症にも拡大しつつあることを示している。既に、サルモネラや赤痢菌でも NDM-1 や KPC-2 を産生する株が出現している (34-36)。

11. CRE を検出するにはどのようにしたら良いか

CRE の多くは、日常的な薬剤感受性試験で、IPM や MEPM に対し、「R」と判定されるが、一部には「S」や「I」と判定される株も見られる。しかし、そのような株でも、カルバペネム以外のセフェム系薬に対し「R」と判定されることが多い。NDM-1 などの MBL 産生株では、pAmpC や CTX-M 型 ESBL を同時に産生する株であっても、MEPM の disk を指標薬として用い、SMA の disk を 5 mm- 8 mm 程度離して阻害作用をみる試験法 (modified SMA test) (37) で検出される場合もあるが、KPC 産生株や OXA-48 産生株では、この方法は使えない。KPC 型カルバペネマーゼについては、3-アミノフェニルボロン酸が阻害活性を示す (38) 点も参考になる。また、KPC を産生する肺炎桿菌の場合、タゾバクタム／ピペラシリンの合剤に高度耐性 (> 256 $\mu\text{g/ml}$) を示す傾向があり、鑑別点として利用可能である。今のところ、感度や特異度に問題はあがあるが、modified Hodge test が、CRE のスクリーニングには適しているとされている。しかし、陰性や偽陽性の場合も多いのが難点である。カルバペネム系への耐性度は必ずしもあてにならないが、広範囲のセフェム系 β -ラクタム薬に耐性を示す株が分離された場合には、CRE を疑い、最終的な確認は PCR 法に頼らざるを得ないのが現実である。

おわりに

ESBL や AmpC などに安定な「切り札」的抗菌薬として、チエナム（イミペネム&シラスタチン）が 1987 年に発売され 20 年以上が経過した。海外でもチエナムやメロペンなどが相次いで発売され、2005 年には、フィニバックス（ドリペネム）も国内で発売が開始され、米国でも最近承認されている（39）。今後も人類が細菌感染症の治療において勝者として優位な立場を堅持し続けるためには、これらの CRE を、医療環境とともに市中環境で蔓延させない為にサーベイランスと感染制御策の強化が不可欠であり、またそれと並行しつつ、新たな抗菌薬の開発と実用化が急務となっている。

参考文献

1. http://www.cdc.gov/media/releases/2013/p0305_deadly_bacteria.html
2. Mouloudi E, et al., Bloodstream infections caused by metallo- β -lactamase/*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* among intensive care unit patients in Greece: risk factors for infection and impact of type of resistance on outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 31:1250-6, 2010.
3. Marchaim D, et. al., Isolation of imipenem-resistant *Enterobacter* species: emergence of KPC-2 carbapenemase, molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Antimicrob Agents Chemother.* 52:1413-8, 2008.
4. Navarro-San Francisco C, et al., Bacteraemia due to OXA-48-carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a major clinical challenge. *Clin Microbiol Infect.* 19:E72-9, 2013.
5. Arakawa Y, et al., Close evolutionary relationship between the chromosomally encoded β -lactamase gene of *Klebsiella pneumoniae* and the TEM β -lactamase gene mediated by R plasmids. *FEBS Lett.* 207:69-74, 1986.
6. Grundström T, Jaurin B. Overlap between ampC and frd operons on the *Escherichia coli* chromosome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 79:1111-5, 1982.
7. Sirot D. Extended-spectrum plasmid-mediated β -lactamases. *J Antimicrob Chemother.* 36 Suppl A:19-34, 1995.
8. Lindberg F, Normark S. Contribution of chromosomal β -lactamases to β -lactam resistance in enterobacteria. *Rev Infect Dis.* 8 Suppl 3:S292-304, 1986.
9. Horii T, Arakawa Y, et al., Plasmid-mediated AmpC-type β -lactamase isolated from *Klebsiella pneumoniae* confers resistance to broad-spectrum β -lactams, including moxalactam. *Antimicrob Agents Chemother.* 37:984-90, 1993.
10. Yigit H, et al., Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 45:1151-61, 2001.
11. Poirel L, Héritier C, et al., Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 48:15-22, 2004.
12. Yong D, Toleman MA, et al., Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, bla_{NDM-1}, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother.* 53:5046-54, 2009.
13. Osano E, Arakawa Y, et al., Molecular characterization of an enterobacterial metallo β -lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 38:71-8, 1994.
14. Senda K, Arakawa Y, et al., Multifocal outbreaks of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* resistant to broad-spectrum β -lactams, including carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 40:349-53, 1996.
15. Watanabe M, Iyobe S, et al., Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob*

- Agents Chemother. 35:147-51, 1991.
16. Lauretti L, Riccio ML, et al., Cloning and characterization of *bla*_{VIM}, a new integron-borne metallo- β -lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother. 43:1584-90, 1999.
 17. Poirel L, Naas T, et al., Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo- β -lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. Antimicrob Agents Chemother. 44:891-7, 2000.
 18. Kumarasamy KK, Toleman MA, et al., Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. Lancet Infect Dis. 10:597-602, 2010.
 19. Cornaglia G, et al., Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? Lancet Infect Dis 11: 381-93, 2011.
 20. Smith Moland E, Hanson ND, et al., Plasmid-mediated, carbapenem-hydrolysing β -lactamase, KPC-2, in *Klebsiella pneumoniae* isolates. J Antimicrob Chemother. 51:711-4, 2003.
 21. Gootz TD, Lescoe MK, et al., Genetic organization of transposase regions surrounding *bla*_{KPC} carbapenemase genes on plasmids from *Klebsiella strains* isolated in a New York City hospital. Antimicrob Agents Chemother. 53:1998-2004, 2009.
 22. Cuzon G, Naas T, et al., Worldwide diversity of *Klebsiella pneumoniae* that produce β -lactamase *bla*_{KPC-2} gene. Emerg Infect Dis. 16:1349-56, 2010.
 23. Nordmann P, Dortet L, et al., Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! Trends Mol Med. 18:263-72, 2012.
 24. Castanheira M, Deshpande LM, et al., Early dissemination of NDM-1- and OXA-181-producing *Enterobacteriaceae* in Indian hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006-2007. Antimicrob Agents Chemother. 55:1274-8, 2011.
 25. Stapleton PD, Shannon KP, French GL. Carbapenem resistance in *Escherichia coli* associated with plasmid-determined CMY-4 β -lactamase production and loss of an outer membrane protein. Antimicrob Agents Chemother. 43:1206-10, 1999.
 26. Dahmen S, Mansour W, et al., Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated to the combination of plasmid-mediated CMY-4 AmpC β -lactamase and loss of an outer membrane protein. Microb Drug Resist. 18:479-83, 2012.
 27. Kim SY, Park YJ, et al., Prevalence and mechanisms of decreased susceptibility to carbapenems in *Klebsiella pneumoniae* isolates. Diagn Microbiol Infect Dis. 57:85-91, 2007.
 28. (<http://www.nih.go.jp/niid/images/iasr/34/395/graph/kt39521.gif>)
 29. Nagano N, Endoh Y, et al., First report of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan from a patient returned from Southeast Asia. Jpn J Infect Dis. 66:79-81, 2013.
 30. Wachino J, Yoshida H, et al., 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. 55:5143-9, 2011.
 31. Bae IK, Lee YN, et al., Genetic and biochemical characterization of GES-5, an extended-spectrum class A β -lactamase from *Klebsiella pneumoniae*. Diagn Microbiol Infect Dis. 58:465-8, 2007.
 32. Bogaerts P, Naas T, et al., GES extended-spectrum β -lactamases in *Acinetobacter baumannii* isolates in Belgium. Antimicrob Agents Chemother. 54:4872-8, 2010.
 33. Bebrone C, Bogaerts P, et al., GES-18, a new carbapenem-hydrolyzing GES-Type β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* that contains Ile80 and Ser170 residues. Antimicrob Agents Chemother. 57:396-401, 2013.
 34. Miriagou V, Tzouvelekis LS, et al., Imipenem resistance in a *Salmonella* clinical strain due to plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2. Antimicrob Agents Chemother. 47:1297-300, 2003.

35. Fischer J, Schmoger S, et al., NDM-1 carbapenemase-producing *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Corvallis isolated from a wild bird in Germany. J Antimicrob Chemother. 2013 Jun 30. [Epub ahead of print]
36. Walsh TR, Weeks J, et al., Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. Lancet Infect Dis. 11:355-62, 2011.
37. <https://www.nih-janis.jp/material/material/modified%20SMA-disk%20method.pdf>
38. Doi Y, Potoski BA, et al., Simple disk-based method for detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-type β -lactamase by use of a boronic acid compound. J Clin Microbiol. 46:4083-6, 2008.
39. Hsaiky L, Murray KP, et al., Standard versus prolonged doripenem infusion for treatment of gram-negative infections. Ann Pharmacother. 47(7-8):999-1006, 2013.

日本の薬剤耐性菌の現状

国立感染症研究所 細菌第二部

柴 山 恵 吾

■内容

はじめに	40
JANIS 還元情報	72
おわりに	75

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ある。

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1,000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 として解析結果をホームページ（<http://www.nih-janis.jp/>）で公開している。JANIS はまた同時に、参加医療機関それぞれ個別の集計結果を作成して還元情報として提供し、医療機関内における感染対策を支援することを目的としている。公開情報では、日本国内において主な菌種で各種抗菌薬に対する耐性の割合がどれくらいなのか、また主な薬剤耐性菌がどの程度分離されているか、などを集計し、結果を分かりやすい図表にして公開している。参加医療機関へ個別に提供する還元情報では、その医療機関のデータ及び、全国データとの比較の図表を示して、自施設の耐性菌の状況が他と比べて高いのか低いのかを分かるようにして、感染対策の策定や評価に活用して頂いている。各医療機関においては、ICT が自施設の薬剤耐性菌等の分離状況を集計し、それに基づいて感染対策を実施していると思われるが、JANIS の還元情報は、さらに全国データとを比較する情報を提供し、感染対策のレベルアップに資することを目的としている。JANIS は厚生労働省医政局指導課が実施するサーベイランスで、統計法に基づく調査である。感染症法に基づく届出とは別の調査であり、任意参加型の事業である。データ解析は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2012年の検査部門の公開情報のデータを用いて、主要な各種耐性菌の国内での状況を説明する。また、参加医療機関に個別にどのような情報を提供しているのかについても例を示して解説する。

公開情報 2012 年 1 月～12 月 年報

院内感染対策サーベイランス 検査部門



【検査部門におけるサーベイランスの概要と目的】

本サーベイランスの目的は、細菌検査により検出される主要な細菌の分離頻度とその抗菌薬感受性を継続的に収集・解析し、医療機関における主要な細菌ならびに薬剤耐性菌の分離状況を明らかにすることである。

サーベイランスの対象となる主要菌ならびに薬剤耐性菌の分離率は、医療機関から提出された陰性検体を含むすべての細菌検査データを基に集計し、算出している。また検査材料別の分離菌割合や菌種別の分離患者数、集計医療機関の分離率分布を集計し、医療機関における主要菌ならびに薬剤耐性菌のベンチマークとなる情報を提供している。

【図表】

1. データ提出医療機関* 数
2. データ提出医療機関数、検体数、分離菌数
3. 検査材料別分離菌数割合
4. 主要菌分離患者数と全医療機関* の分離率分布
5. 特定の耐性菌分離患者数と全医療機関* の分離率分布
6. 特定の耐性菌が分離された医療機関の割合
7. 主要菌の抗菌薬感受性

Staphylococcus aureus (Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* : MSSA)

Staphylococcus aureus (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : MRSA⁺)

Staphylococcus epidermidis

Coagulase-negative staphylococci (CNS⁺)

Enterococcus faecalis

Enterococcus faecium

Streptococcus pneumoniae

Streptococcus pyogenes

Streptococcus agalactiae

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

Serratia marcescens

Pseudomonas aeruginosa

Acinetobacter spp.

Haemophilus influenzae

公開情報 2012 年 1 月～12 月 年報

院内感染対策サーベイランス 検査部門



Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP⁺) 外来患者対象

* ここではデータ提出医療機関ならびに全医療機関は、集計対象医療機関を表す

† 巻末資料 1. 【耐性菌の定義】参照

‡ *S. epidermidis* を除く Coagulase-negative staphylococci

【解説】

1. データ提出医療機関数

2012 年年報（2012 年 1 月～12 月）の集計対象医療機関数は、660 であり、前年より 66 増加した。これは国内 7,529 医療機関の 8.8%を占めていた。200 床以上の医療機関に限ると集計対象医療機関は 651 であり、国内 2,052 のうちの 31.7%を占めていた。特に 500 床以上では国内 415 医療機関中 237（57.1%）と半数を超える医療機関が集計対象であった。

2. データ提出医療機関数、検体数、分離菌数

入院患者由来の検体として報告された 4,230,786 検体のうち、菌が分離されたものは 1,852,875 検体（陽性検体の割合：43.8%）、分離菌数は 3,452,556 株であった。

検査材料の内訳は、呼吸器系検体が 1,293,727 検体（30.6%）と最も多く、次いで血液検体 1,166,599 検体（27.6%）、尿検体 504,552 検体（11.9%）、便検体 357,340 検体（8.4%）、髄液検体 54,308 検体（1.3%）であった。また、これらの検査材料以外であるその他の検体は 854,260 検体（20.2%）であった。

検査材料別の陽性検体の割合は、呼吸器検体が 65.0%で最も高く、次いで尿検体 52.7%、便検体 51.8%、血液検体 13.1%、髄液検体 5.8%の順であった。また、その他の検体では 47.3%であった。

3. 検査材料別分離菌数割合

血液検体からは 173,355 株が分離された。分離菌のうち上位 3 菌種は、*S. aureus* 25,497 株（14.7%）、*E. coli* 22,811 株（13.2%）、*S. epidermidis* 19,620 株（11.3%）であった。

髄液検体からは 3,638 株が分離された。分離菌のうち上位 3 菌種は、*S. epidermidis* 674 株（18.5%）、*S. epidermidis* を除く CNS 461 株（12.7%）、*S. aureus* 398 株（10.9%）で、いずれもブドウ球菌属であった。

公開情報 2012 年 1 月～12 月 年報

院内感染対策サーベイランス 検査部門



4. 主要菌分離患者数と全医療機関の分離率分布

検体提出患者数は 1,453,969 人であった。分離患者数が最も多かった *S. aureus* は検体提出患者のうち 15.22%にあたる 221,239 人より分離されており、次いで *E. coli* が 171,361 人 (11.79%)、*P. aeruginosa* 101,821 人 (7.00%) の順であった。

5. 特定の耐性菌分離患者数と全医療機関の分離率分布

薬剤耐性菌のうち、分離患者数が最も多かった MRSA は、検体提出患者の 8.06%にあたる 117,209 人より分離された。また、院内感染対策上問題となることの多い多剤耐性緑膿菌 (MDRP) は 2,059 人 (0.14%) より分離されたが、海外でその蔓延が問題となっているバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) は 236 人 (0.02%)、多剤耐性アシネトバクター属 (MDRA) は 163 人 (0.01%) と MDRP に比較して分離患者数は少なかった。しかし、MDRA 分離率をより詳細にみると 2010 年 0.005%、2011 年 0.009%、2012 年は 0.011%と、増加していた。

なお、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌 (VRSA) の分離報告はなかった。

6. 特定の耐性菌が分離された医療機関の割合

MRSA は集計対象となった 660 医療機関すべてから分離が報告され、MDRP は半数以上の 53.2% の医療機関より報告された。一方で VRE は集計対象医療機関の 10.8%、MDRA は 4.4%のみが分離を報告しており、MRSA や MDRP に比べ分離を報告した医療機関は少なかった。

7. 主要菌の抗菌薬感受性

注：VCM 耐性の *S. aureus* など「特殊な耐性を示す菌：カテゴリーA」(p.5 データの精度管理参照) については、報告した全ての医療機関に対して報告内容の真偽について確認しているため、データ入力時のミスなどはすべて除外されている。一方、「特殊な耐性を示す菌：カテゴリーA」以外の抗菌薬感受性結果については、医療機関からの報告どおりの集計結果となっており、誤報告が含まれている可能性がある。

S. aureus では、MSSA はペニシリン G (PCG) に対しては 60.1%が耐性、エリスロマイシン (EM) に対しては 23.4%が耐性であった。セファゾリン (CEZ) には 99.9%が感性であり、レボフロキサシン (LVFX) には 88.6%が感性であった。

MRSA は、バンコマイシン (VCM) に対して 99.9%が感性であった。VCM 耐性株の報告はなかったが、0.1% (104 株) が中等度耐性であった。テイコプラニン (TEIC) に対しては 113,943 株のうち 40 株を除きすべて感性であり、31 株が中等度耐性、9 株が耐性であった。リネゾリド (LZD)

公開情報 2012 年 1 月～12 月 年報

院内感染対策サーベイランス 検査部門



に対してもほぼすべてが感性であり 84,591 株中 35 株のみが非感性であった。

S. epidermidis は、メチシリン (MIPIC) に対して 19.0%が感性であったが、VCM に対しては 59,850 株中 29 株を除くほぼすべてが感性、TEIC に対しては 95.9%が感性であった。*S. epidermidis* を除く CNS では、MIPIC に対して 25.8%が感性であったが、VCM に対しては 99.9%が感性、TEIC に対しては 96.8%が感性であった。

腸球菌では、*E. faecalis* は PCG、アンピシリン (ABPC) にそれぞれ 97.9%、99.6%が感性であったが、*E. faecium* では 12.6%、13.8%が感性であった。また VCM には *E. faecalis* は 69,746 株中 32 株を除きほぼすべてが感性、*E. faecium* は 99.3%が感性であった。

S. pneumoniae の PCG 非感性は 52.3% (中等度耐性 37.0%、耐性 15.3%) であった。またメロペネム (MEPM) に対しては 79.6%が感性、セフトキシム (CTX)、LVFX に対しては、それぞれ 94.7%、96.3%が感性であり、VCM に対してはすべてが感性であった。外来で分離された PRSP (PCG の抗菌薬感受性が I または R) に限った場合、MEPM に対しては 64.6%が感性、CTX、LVFX、VCM に対しては入院患者から分離された全 *S. pneumoniae* とほぼ同等であった。

S. pyogenes では、PCG、ABPC に対してはすべて感性であった。しかし EM は 52.9%が耐性であった。*S. agalactiae* では、PCG、ABPC、CTX にそれぞれ 4.8%、1.5%、3.1%が非感性であった。

腸内細菌科である *E. coli*、*K. pneumoniae*、*S. marcescens* の第三世代セファロスポリン系抗菌薬である CTX およびセフトキシム (CAZ) に対しては、*E. coli* では 81.8%と 90.9%、*K. pneumoniae* で 93.7%と 96.3%、*S. marcescens* で 79.2%と 90.0%が感性であった。また上記 3 菌種のイミペネム (IPM) に対する感性の割合は *E. coli* 99.9%、*K. pneumoniae* 99.8%、*S. marcescens* 99.3%であり、LVFX に対する感性の割合は、*E. coli* 64.3%、*K. pneumoniae* 96.2%、*S. marcescens* 91.7%であった。

P. aeruginosa では、カルバペネム系の IPM、MEPM に対してはそれぞれ 76.3%、82.4%が感性であった。アミノグリコシド系のゲンタマイシン (GM) とアミカシン (AMK) に対しては 83.7%、94.2%が、フルオロキノロン系の LVFX に対しては 76.4%が感性であった。

Acinetobacter spp. では、IPM、MEPM に対して、それぞれ 96.9%、96.1%が感性であった。また GM と AMK に対しては 87.1%、94.6%、LVFX に対しては 84.9%が感性であった。

H. influenzae では、45.9%が ABPC に対して感性であり、スルバクタム/アンピシリン (SBT/ABPC) とクラブラン酸アモキシシリン (CVA/AMPC) に対しては、それぞれ 72.2%、81.9%が感性であった。

公開情報 2012 年 1 月～12 月 年報

院内感染対策サーベイランス 検査部門



データの精度管理

- 年間を通じて提出検体が無い。
- 年間を通じて大腸菌の報告が無い。
- 血液検体が年間 10 検体以上報告され、かつ陽性検体の割合が 90%以上。
- 髄液検体が年間 10 検体以上報告され、かつ陽性検体の割合が 90%以上。
- 国内で過去に報告が無い薬剤耐性菌（特殊な耐性を示す菌：カテゴリーA）に該当する薬剤耐性菌の報告がある。

[特殊な耐性を示す菌：カテゴリーA]

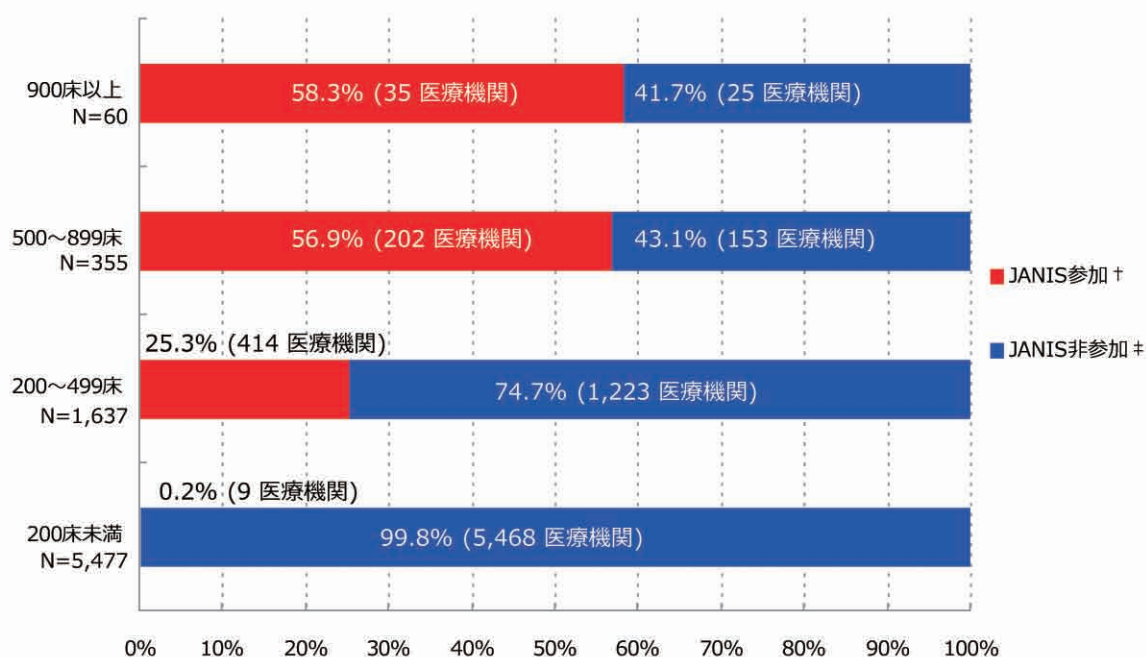
- ・ PCG、ABPC、VCM、LZD 非感性の *S. pyogenes*
- ・ VCM、LZD 非感性の *S. agalactiae*
- ・ VCM、LZD 非感性の *S. pneumoniae*（外来含む）
- ・ VCM 耐性の *S. aureus*（外来含む）
- 微量液体希釈法での報告が無い。

主に上記の基準に該当する医療機関に問い合わせを行った結果、提出されたデータに疑義が生じた医療機関については集計から除外した。このため、年報の結果は月報や四半期報の結果とは異なる場合がある。

公開情報 2012年1月～12月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門



1. データ提出医療機関*数(660医療機関)



*ここではデータ提出医療機関は集計対象医療機関を表す

† JANIS参加 = 2012年1～12月 集計対象医療機関数

‡ JANIS非参加 = (2011年 全国医療機関数¶) - (2012年1～12月 集計対象医療機関数)

病床数	2011年 全国医療機関数¶	2012年1月～12月 集計対象医療機関数 (全国医療機関数に占める割合)	
900床以上	60	35	(58.3%)
500～899床	355	202	(56.9%)
200～499床	1,637	414	(25.3%)
200床未満	5,477	9	(0.2%)
病床数不明	-	0	(-)
合計	7,529	660	(8.8%)

¶平成23年医療施設（動態）調査を参照した
精神科病院はのぞく

公開情報 2012年1月～12月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門



2. データ提出医療機関数、検体数、分離菌数

検査材料分類	集計対象医療機関数	検体数	陽性検体数 (分離菌数)
呼吸器系検体	660	1,293,727	841,064 (1,784,976)
尿検体	657	504,552	265,950 (409,324)
便検体	658	357,340	185,070 (372,037)
血液検体	659	1,166,599	153,348 (173,355)
髄液検体	609	54,308	3,155 (3,638)
その他	660	854,260	404,288 (709,226)
合計	660	4,230,786	1,852,875 (3,452,556)

入院として報告された検体を集計

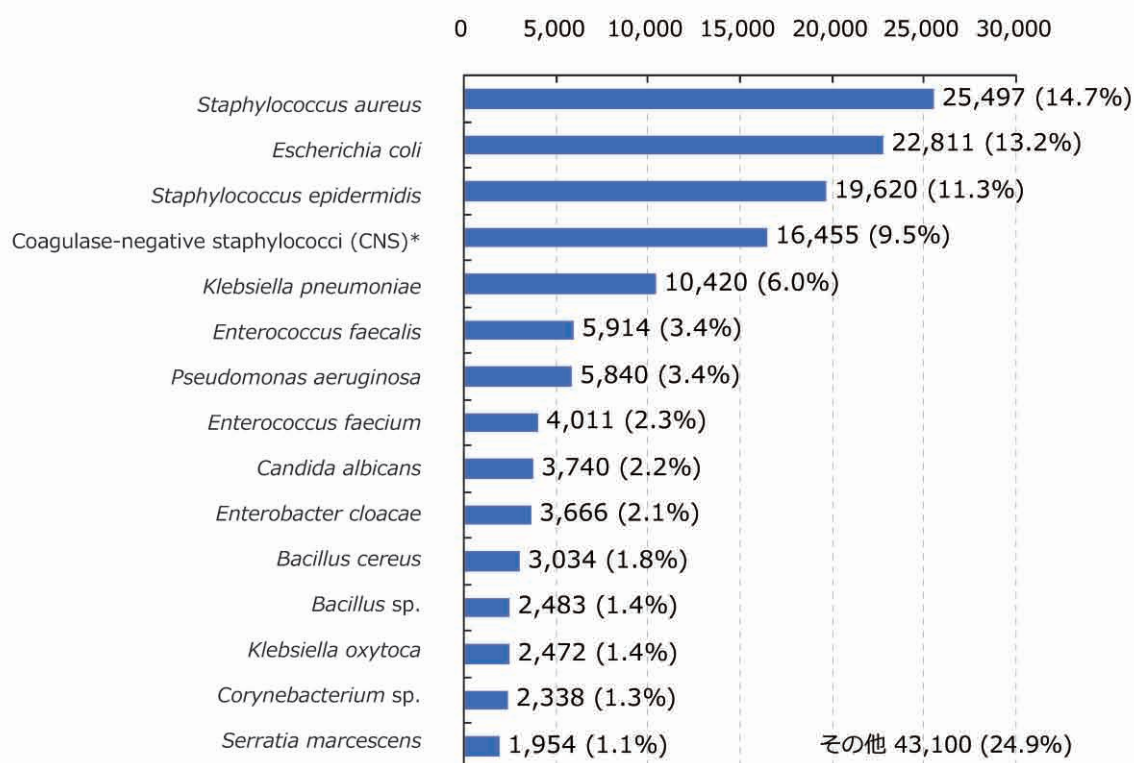
集計対象菌：コメントのみ(菌名コード9999)の報告以外の全ての菌

検査材料分類は検査材料コード参照

： http://www.nih-janis.jp/section/master/specimenentitytype_ver1.0_20070701.xls

3. 検査材料別分離菌数割合

血液検体分離菌 (N=173,355)



*菌名コード：1311, 1313～1325と報告された菌（1312：*Staphylococcus epidermidis*は対象外）

入院として報告された検体を集計

分離菌数割合が16位以下は「その他」に集計

集計対象菌：コメントのみ(菌名コード9999)の報告以外の全ての菌

集計対象検査材料：静脈血(検査材料コード401)と動脈血(同402)

血液検体分離菌数割合 = (対象菌の血液検体分離菌数) ÷ (血液検体分離菌数合計) × 100

菌名コードについて

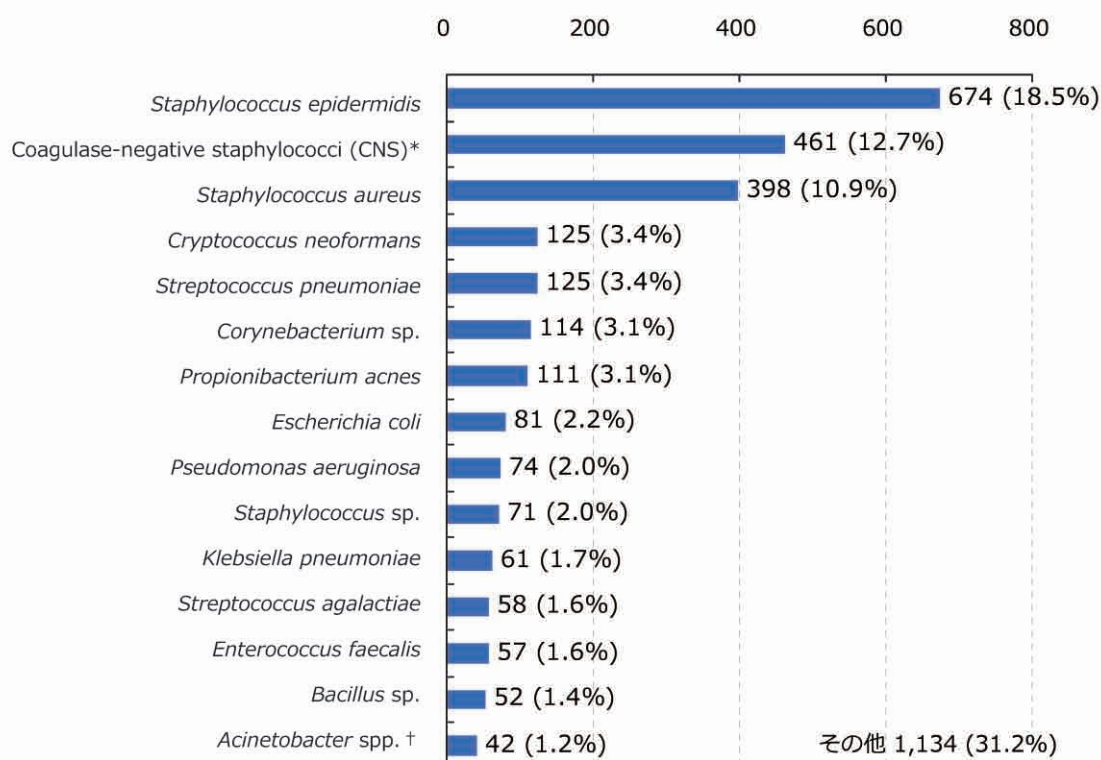
： http://www.nih-janis.jp/section/master/infectiousagentcode_ver4.1_20121029.xls

検査材料コードについて

： http://www.nih-janis.jp/section/master/specimenentitytype_ver1.0_20070701.xls

3. 検査材料別分離菌数割合

髄液検体分離菌 (N=3,638)



*菌名コード：1311, 1313～1325と報告された菌（1312：*Staphylococcus epidermidis*は対象外）

†菌名コード：4400～4403と報告された菌

入院として報告された検体を集計

分離菌数割合が16位以下は「その他」に集計

集計対象菌：コメントのみ(菌名コード9999)の報告以外の全ての菌

集計対象検査材料：髄液(検査材料コード403)

髄液検体分離菌数割合 = (対象菌の髄液検体分離菌数) ÷ (髄液検体分離菌数合計) × 100

菌名コードについて

： http://www.nih-janis.jp/section/master/infectiousagentcode_ver4.1_20121029.xls

検査材料コードについて

： http://www.nih-janis.jp/section/master/specimenentitytype_ver1.0_20070701.xls

公開情報 2012年1月～12月 年報

院内感染対策サーベイランス 検査部門



4. 主要菌分離患者数*と全医療機関†の分離率分布

	2008年 患者数 (分離率 ‡)	2009年 患者数 (分離率 ‡)	2010年 患者数 (分離率 ‡)	2011年 患者数 (分離率 ‡)	2012年 患者数 (分離率 ‡)	集計対象医療機関の分離率¶ (%)の分布
検体提出患者数	930,861人	1,056,555人	1,069,216人	1,309,993人	1,453,969人	
<i>S. aureus</i>	162,332人 (17.44%)	180,184人 (17.05%)	175,145人 (16.38%)	210,382人 (16.06%)	221,239人 (15.22%)	1.85 15.14 41.67
<i>S. epidermidis</i>	45,752人 (4.92%)	51,223人 (4.85%)	47,523人 (4.44%)	64,588人 (4.93%)	65,531人 (4.51%)	0.00 2.90 41.80
<i>S. pneumoniae</i>	27,449人 (2.95%)	30,222人 (2.86%)	31,426人 (2.94%)	32,501人 (2.48%)	30,484人 (2.10%)	0.00 1.51 19.13
<i>E. faecalis</i>	55,698人 (5.98%)	61,113人 (5.78%)	59,458人 (5.56%)	75,862人 (5.79%)	82,510人 (5.67%)	0.00 5.04 23.41
<i>E. faecium</i>	15,888人 (1.71%)	18,248人 (1.73%)	18,674人 (1.75%)	23,523人 (1.80%)	26,941人 (1.85%)	0.00 1.55 26.83
<i>E. coli</i>	101,418人 (10.90%)	116,227人 (11.00%)	118,958人 (11.13%)	151,601人 (11.57%)	171,361人 (11.79%)	2.62 11.33 36.69
<i>K. pneumoniae</i>	50,353人 (5.41%)	56,924人 (5.39%)	60,040人 (5.62%)	77,702人 (5.93%)	85,532人 (5.88%)	0.00 5.85 20.24
<i>Enterobacter</i> spp.	35,128人 (3.77%)	39,349人 (3.72%)	40,363人 (3.78%)	53,484人 (4.08%)	57,843人 (3.98%)	0.00 3.39 11.44
<i>S. marcescens</i>	13,749人 (1.48%)	15,248人 (1.44%)	15,116人 (1.41%)	18,762人 (1.43%)	19,452人 (1.34%)	0.00 1.17 13.95
<i>P. aeruginosa</i>	75,664人 (8.13%)	81,437人 (7.71%)	80,160人 (7.50%)	99,299人 (7.58%)	101,821人 (7.00%)	0.46 6.66 47.47
<i>Acinetobacter</i> spp.	14,755人 (1.59%)	16,320人 (1.54%)	16,107人 (1.51%)	20,551人 (1.57%)	20,997人 (1.44%)	0.00 1.15 18.03

入院として報告された検体を集計

*分離患者数と検体提出患者数は30日ごとに重複処理(巻末参照)している

† ここでは全医療機関は集計対象医療機関を表す

‡ ここでの分離率は全体の分離率を表す

全体の分離率

= (集計対象医療機関の対象菌の分離患者数合計) ÷ (集計対象医療機関の検体提出患者数合計) × 100

¶分離率 = (対象菌の分離患者数) ÷ (検体提出患者数) × 100

5. 特定の耐性菌分離患者数*と全医療機関†の分離率分布

	2008年 患者数 (分離率 †)	2009年 患者数 (分離率 †)	2010年 患者数 (分離率 †)	2011年 患者数 (分離率 †)	2012年 患者数 (分離率 †)	集計対象医療機関の分離率‡ (%)の分布
検体提出患者数	930,861人	1,056,555人	1,069,216人	1,309,993人	1,453,969人	
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)	97,384人 (10.46%)	105,722人 (10.01%)	100,845人 (9.43%)	114,933人 (8.77%)	117,209人 (8.06%)	1.15 7.96 38.29 HCH
バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)	0人 (0.00%)	0人 (0.00%)	0人 (0.00%)	0人 (0.00%)	0人 (0.00%)	0.00
バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)	306人 (0.03%)	540人 (0.05%)	520人 (0.05%)	407人 (0.03%)	236人 (0.02%)	0.00 0.00 2.05
ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)	12,234人 (1.31%)	13,662人 (1.29%)	14,769人 (1.38%)	15,062人 (1.15%)	12,874人 (0.89%)	0.00 0.60 18.03 CH
多剤耐性緑膿菌(MDRP)	2,109人 (0.23%)	1,928人 (0.18%)	1,872人 (0.18%)	2,388人 (0.18%)	2,059人 (0.14%)	0.00 0.04 7.45 H
多剤耐性アシネトバクター属(MDRA)	35人 (0.00%)	32人 (0.00%)	55人 (0.01%)	115人 (0.01%)	163人 (0.01%)	0.00 0.00 1.37
カルバペネム耐性緑膿菌	13,524人 (1.45%)	13,727人 (1.30%)	13,425人 (1.26%)	16,479人 (1.26%)	15,815人 (1.09%)	0.00 0.93 15.15 CH
カルバペネム耐性セラチア	162人 (0.02%)	172人 (0.02%)	131人 (0.01%)	118人 (0.01%)	76人 (0.01%)	0.00 0.00 0.29
第三世代セファロスポリン耐性肺炎桿菌	1,593人 (0.17%)	1,875人 (0.18%)	2,050人 (0.19%)	3,155人 (0.24%)	3,419人 (0.24%)	0.00 0.11 8.71 H
第三世代セファロスポリン耐性大腸菌	5,733人 (0.62%)	7,446人 (0.70%)	9,196人 (0.86%)	14,927人 (1.14%)	18,843人 (1.30%)	0.00 1.12 17.41 CH
フルオロキノロン耐性大腸菌	16,630人 (1.79%)	19,832人 (1.88%)	22,996人 (2.15%)	33,000人 (2.52%)	41,684人 (2.87%)	0.00 2.76 22.15 CH

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

MRSAとVREは検査法によらず菌名コードで指定された場合はそれらを含む

*分離患者数と検体提出患者数は30日ごとに重複処理(巻末参照)している

†ここでは全医療機関は集計対象医療機関を表す

‡ここでの分離率は全体の分離率を表す

全体の分離率

= (集計対象医療機関の対象菌の分離患者数合計) ÷ (集計対象医療機関の検体提出患者数合計) × 100

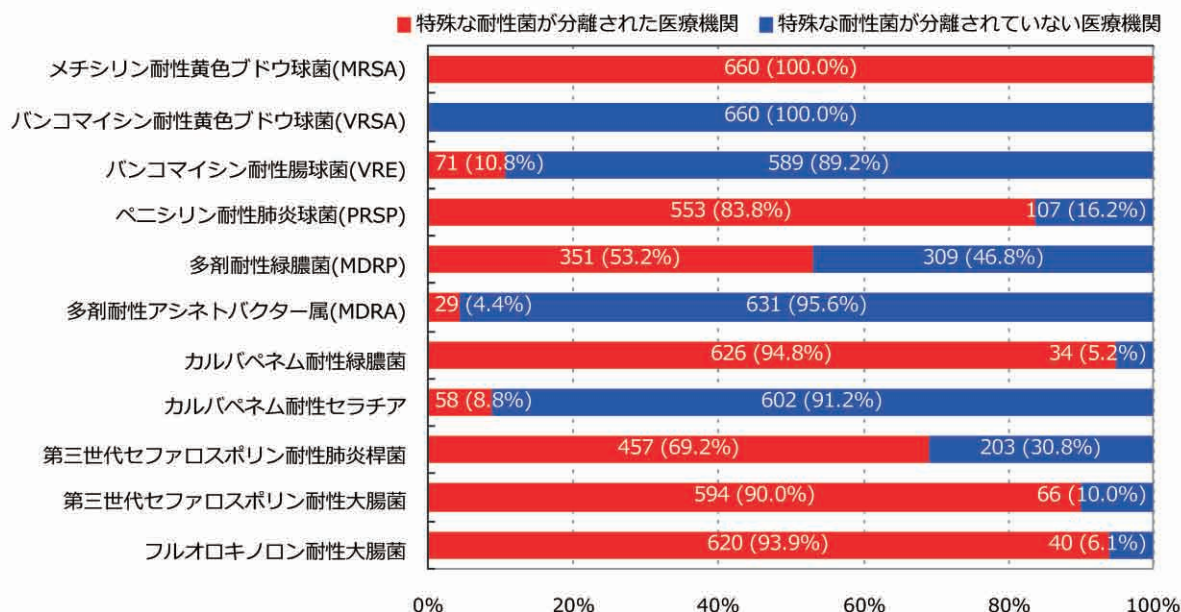
¶分離率 = (対象菌の分離患者数) ÷ (検体提出患者数) × 100

公開情報 2012年1月～12月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門



6. 特定の耐性菌が分離された医療機関の割合

2012年 特定の耐性菌が分離された医療機関の割合 (N=660)



特定の耐性菌が分離された医療機関の割合 (過去5年間)

	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年
集計対象医療機関数	436	499	495	594	660
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)	14.2%	12.8%	11.9%	11.1%	10.8%
ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)	72.9%	77.2%	78.0%	85.0%	83.8%
多剤耐性緑膿菌(MDRP)	57.6%	55.9%	58.8%	59.6%	53.2%
多剤耐性アシネトバクター属(MDRA)	5.7%	5.2%	4.8%	5.2%	4.4%
カルバペネム耐性緑膿菌	85.1%	86.8%	87.9%	94.8%	94.8%
カルバペネム耐性セラチア	17.2%	17.2%	14.7%	13.6%	8.8%
第三世代セファロスポリン耐性肺炎桿菌	55.5%	59.1%	63.2%	69.9%	69.2%
第三世代セファロスポリン耐性大腸菌	79.1%	81.2%	83.2%	91.8%	90.0%
フルオロキノロン耐性大腸菌	84.6%	84.6%	86.9%	94.6%	93.9%

耐性菌判定薬剤(巻末資料参照)が未検査の場合、分離されていない医療機関として集計

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

MRSAとVREは検査法によらず菌名コードで指定された場合はそれらを含む

特定の耐性菌が検出された集計対象医療機関の割合

$$= \frac{\text{特定の耐性菌が1株でも報告された医療機関数}}{\text{集計対象医療機関数}}$$

12

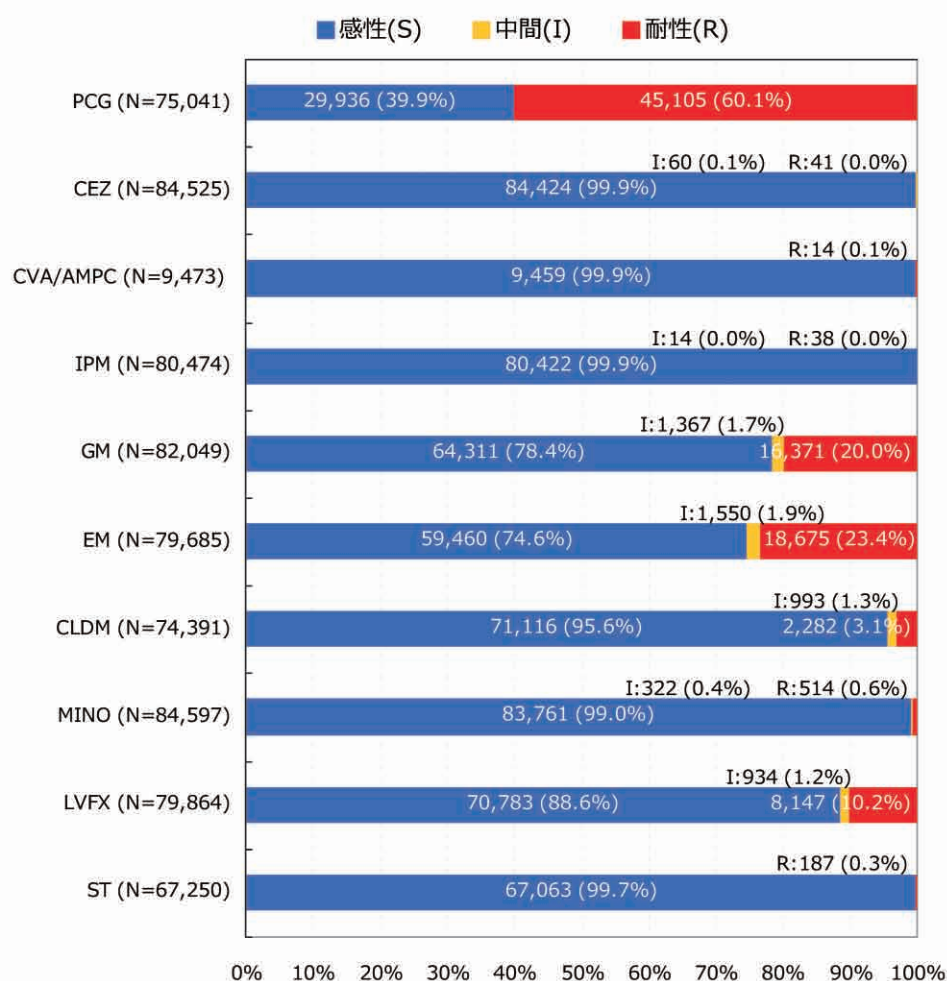
本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

データ集計日: 2013年04月22日

公開情報掲載日: 2013年06月04日

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

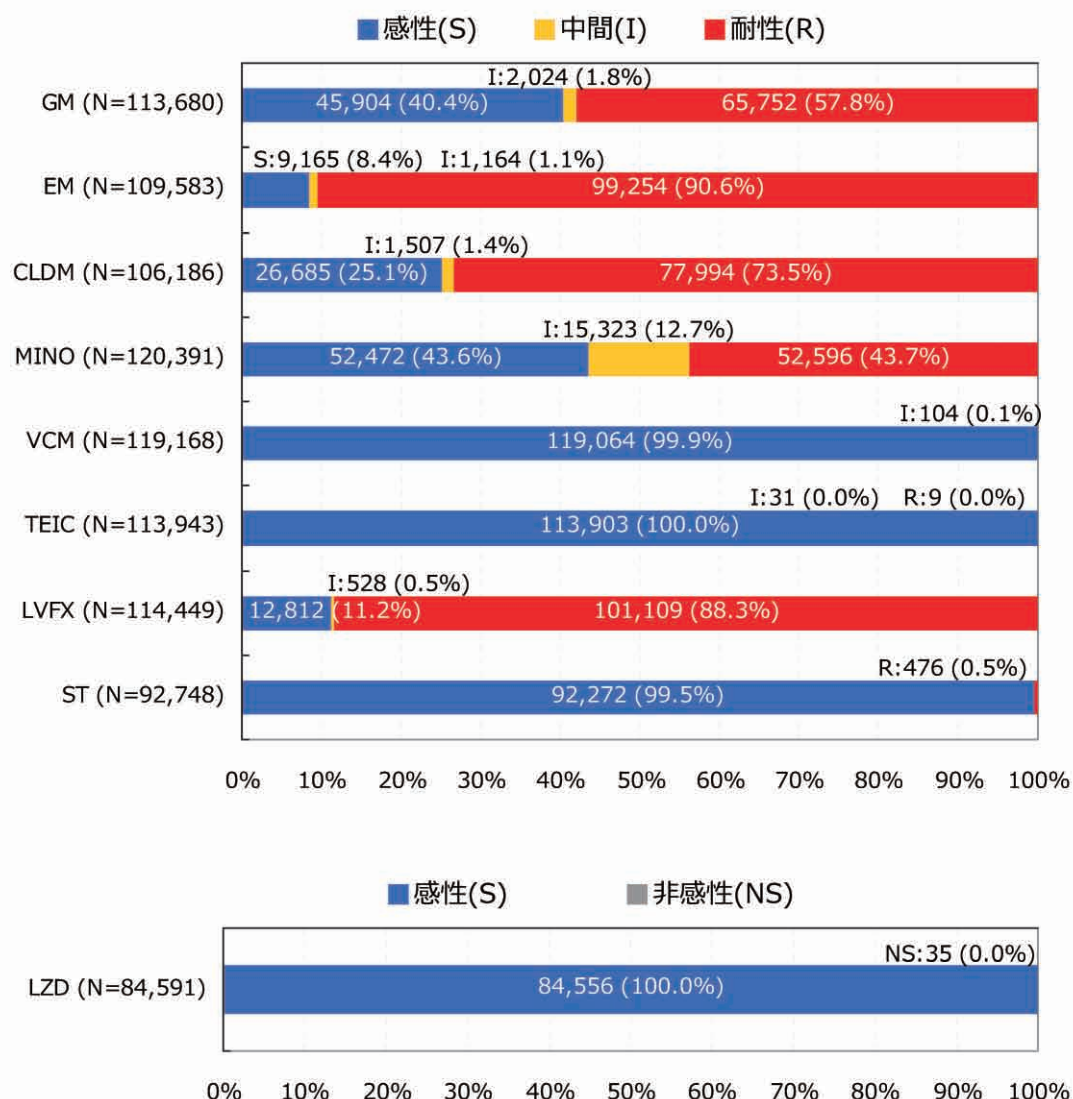
13

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません データ集計日: 2013年04月22日

公開情報掲載日: 2013年06月04日

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Staphylococcus aureus (MRSA) †



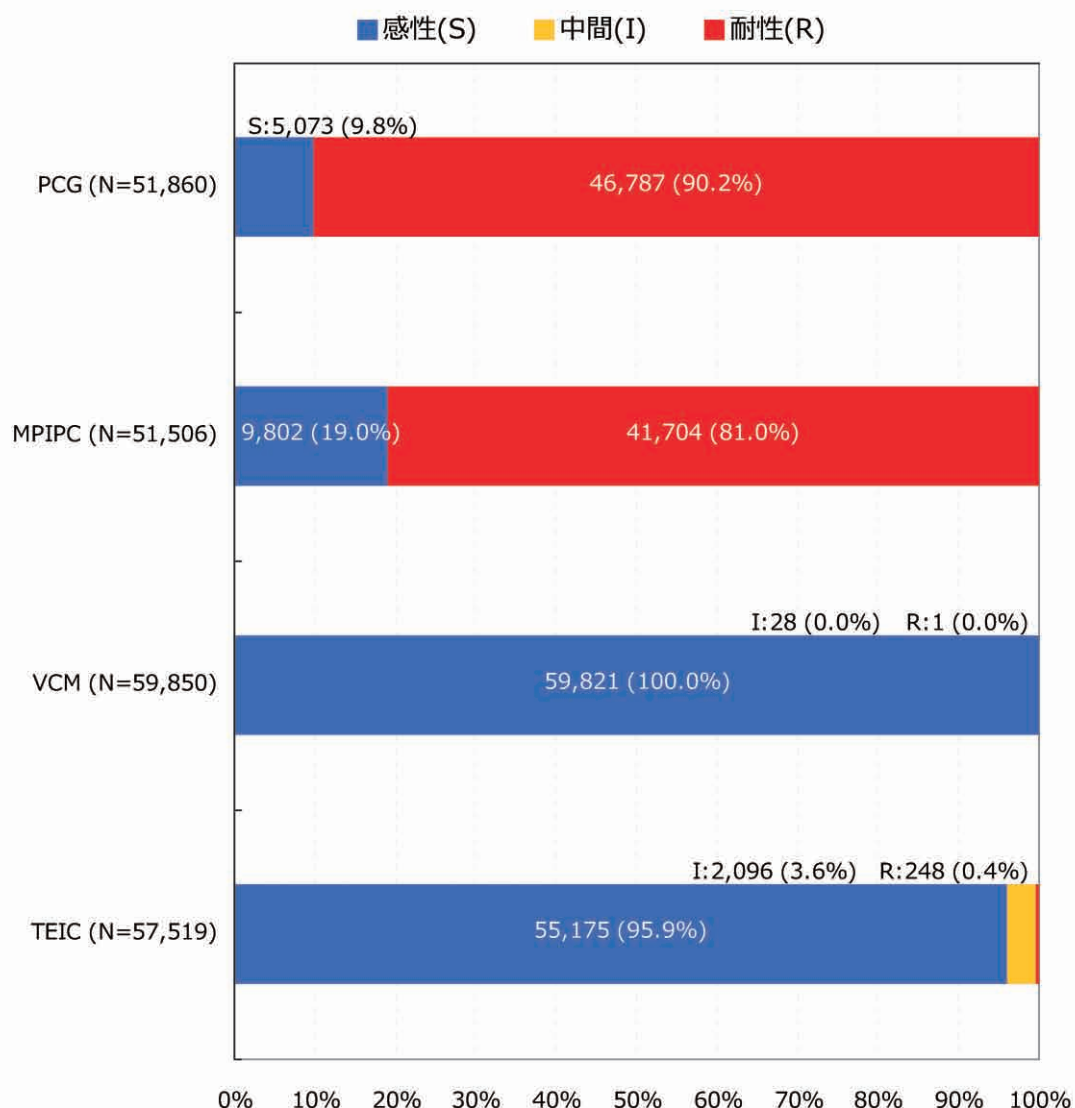
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*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 (オキシサリン)の感受性結果「R」の菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Staphylococcus epidermidis †



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

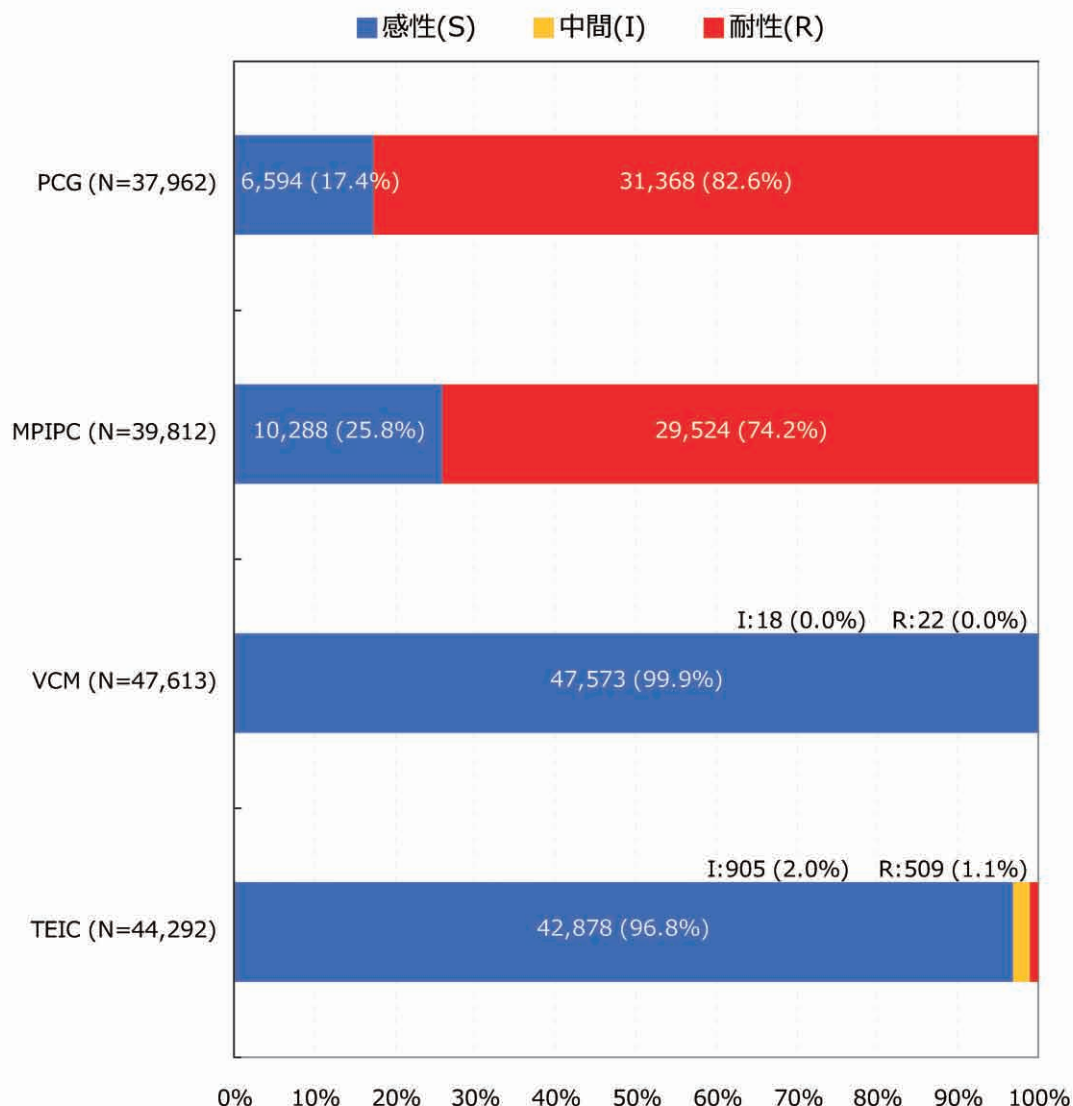
† 菌名コード : 1312と報告された菌

公開情報 2012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*

Coagulase-negative staphylococci (CNS) †



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

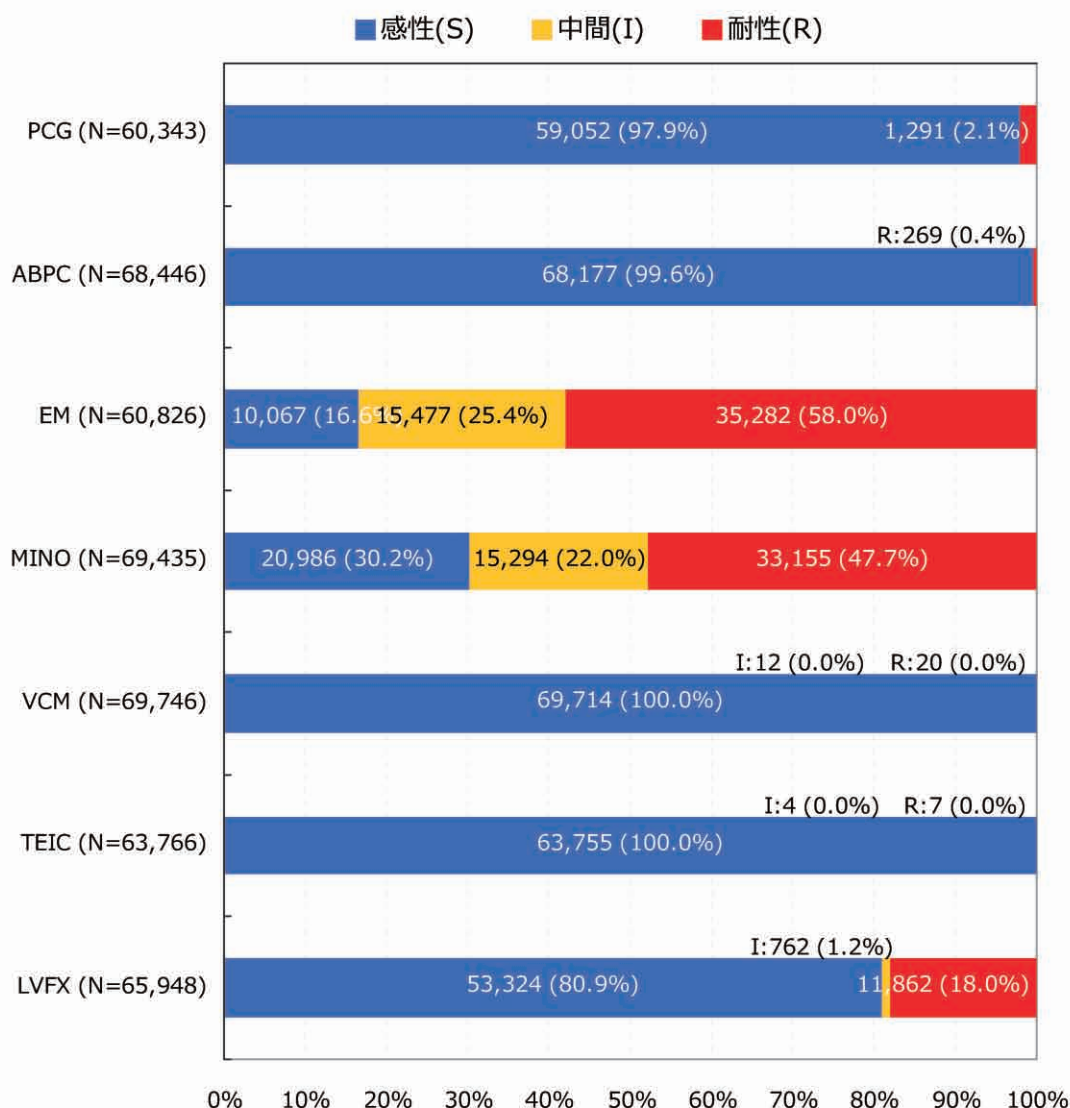
† 菌名コード : 1311, 1313～1325と報告された菌 (1312 : *Staphylococcus epidermidis*は対象外)

公開情報 2012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*

Enterococcus faecalis †



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

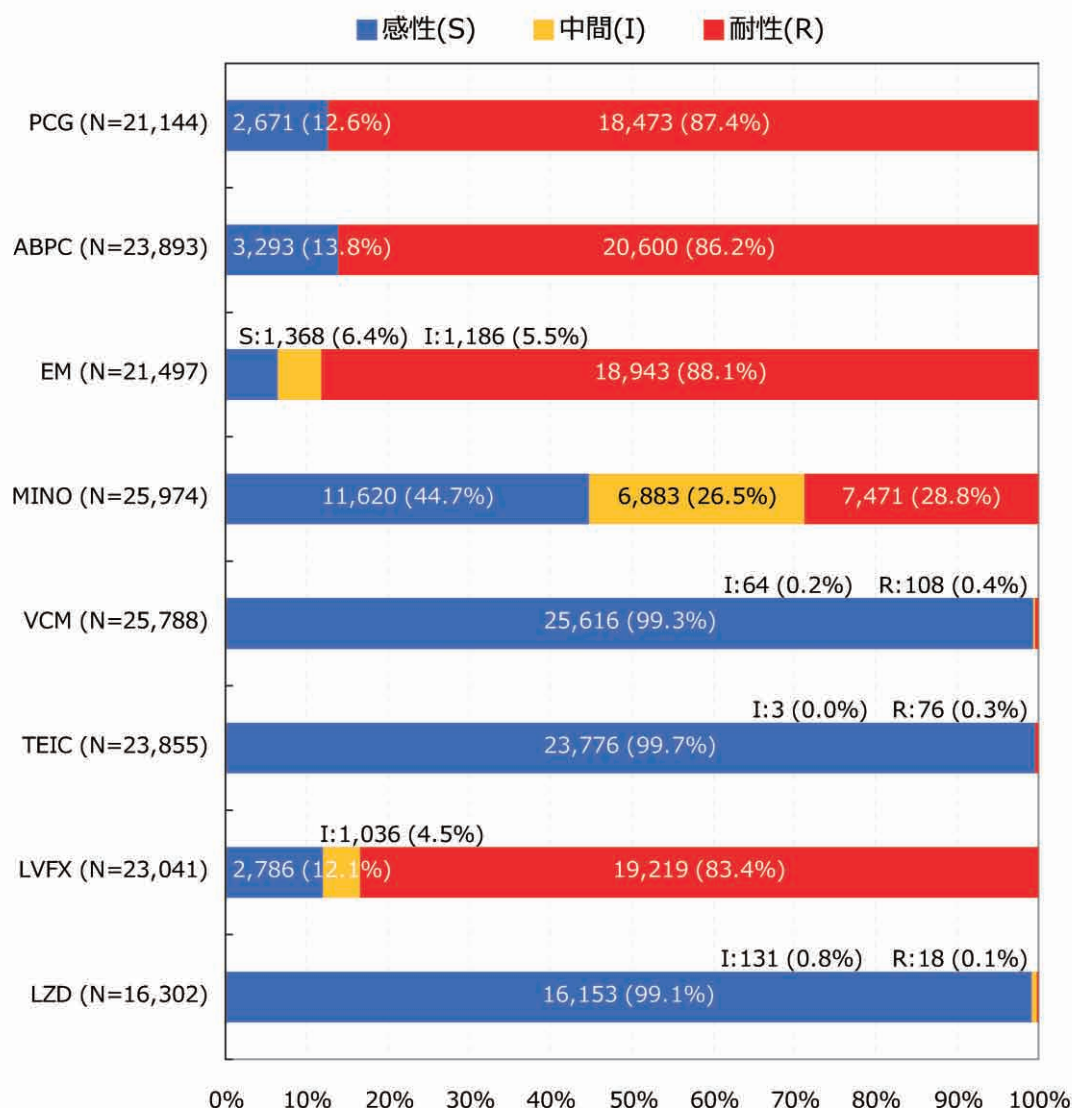
† 菌名コード: 1201, 1202と報告された菌

公開情報 2012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*

Enterococcus faecium †



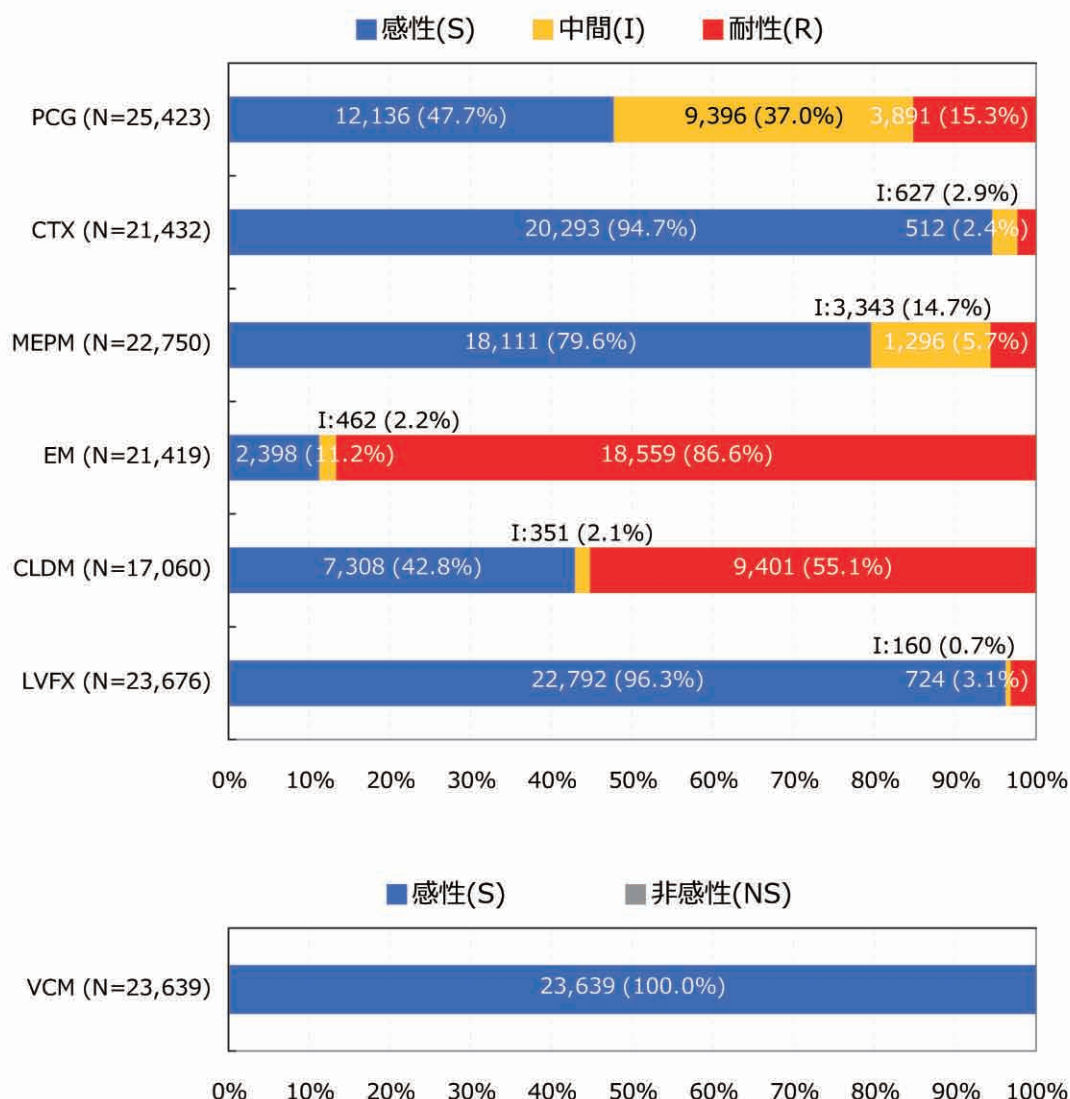
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*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

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Streptococcus 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

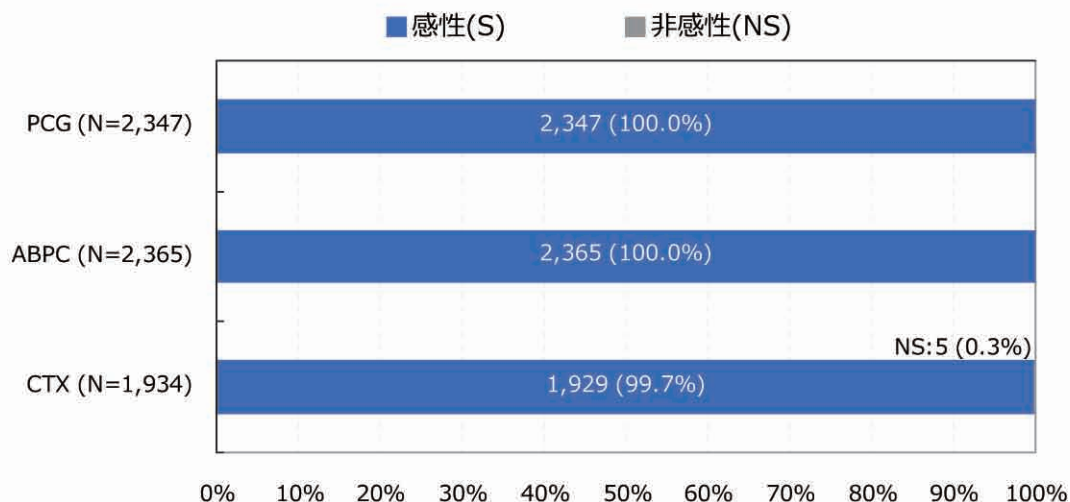
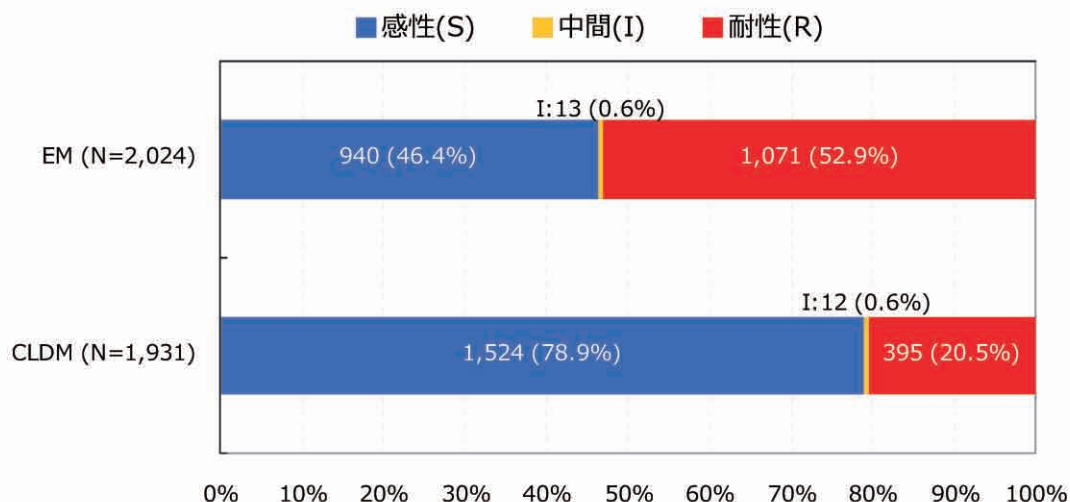
† 菌名コード: 1131と報告された菌

公開情報 2012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 pyogenes †



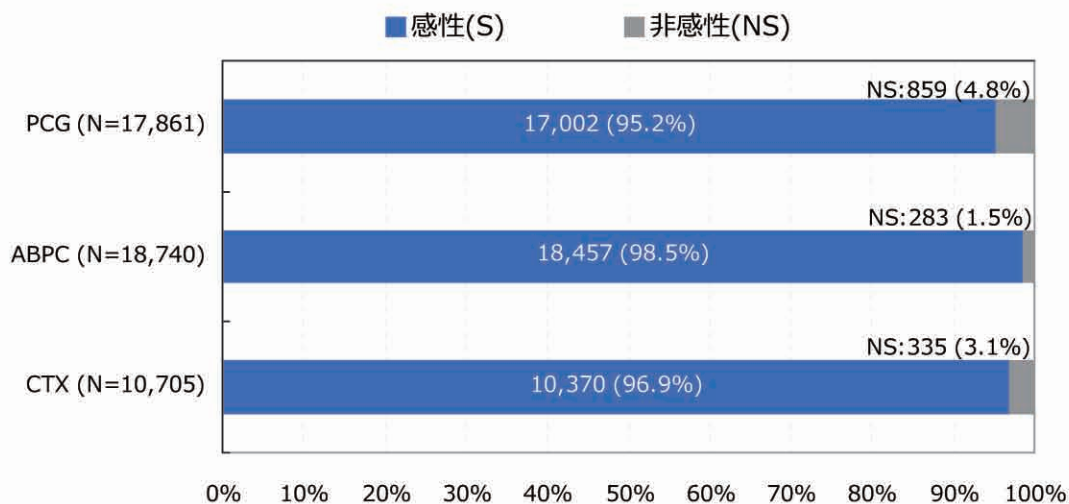
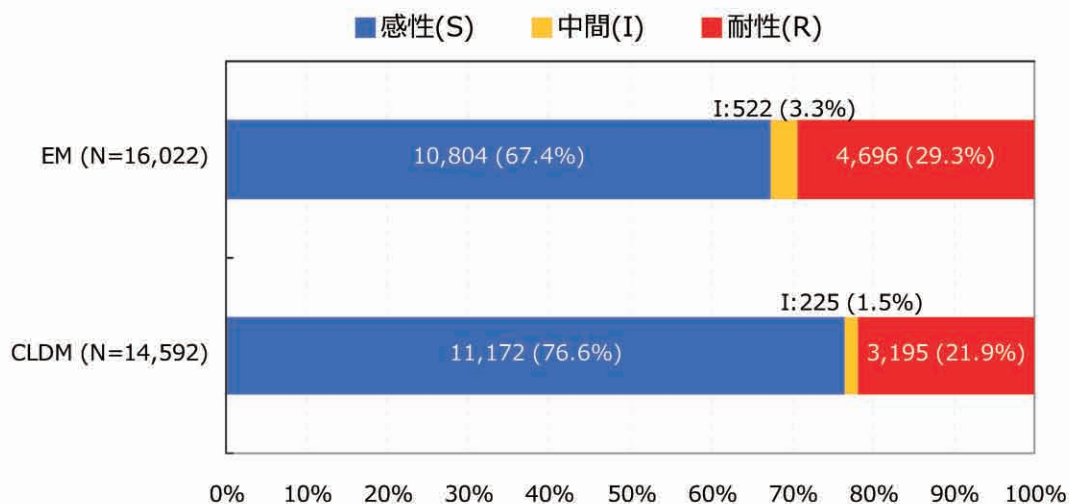
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*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 : 1111と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Streptococcus agalactiae †



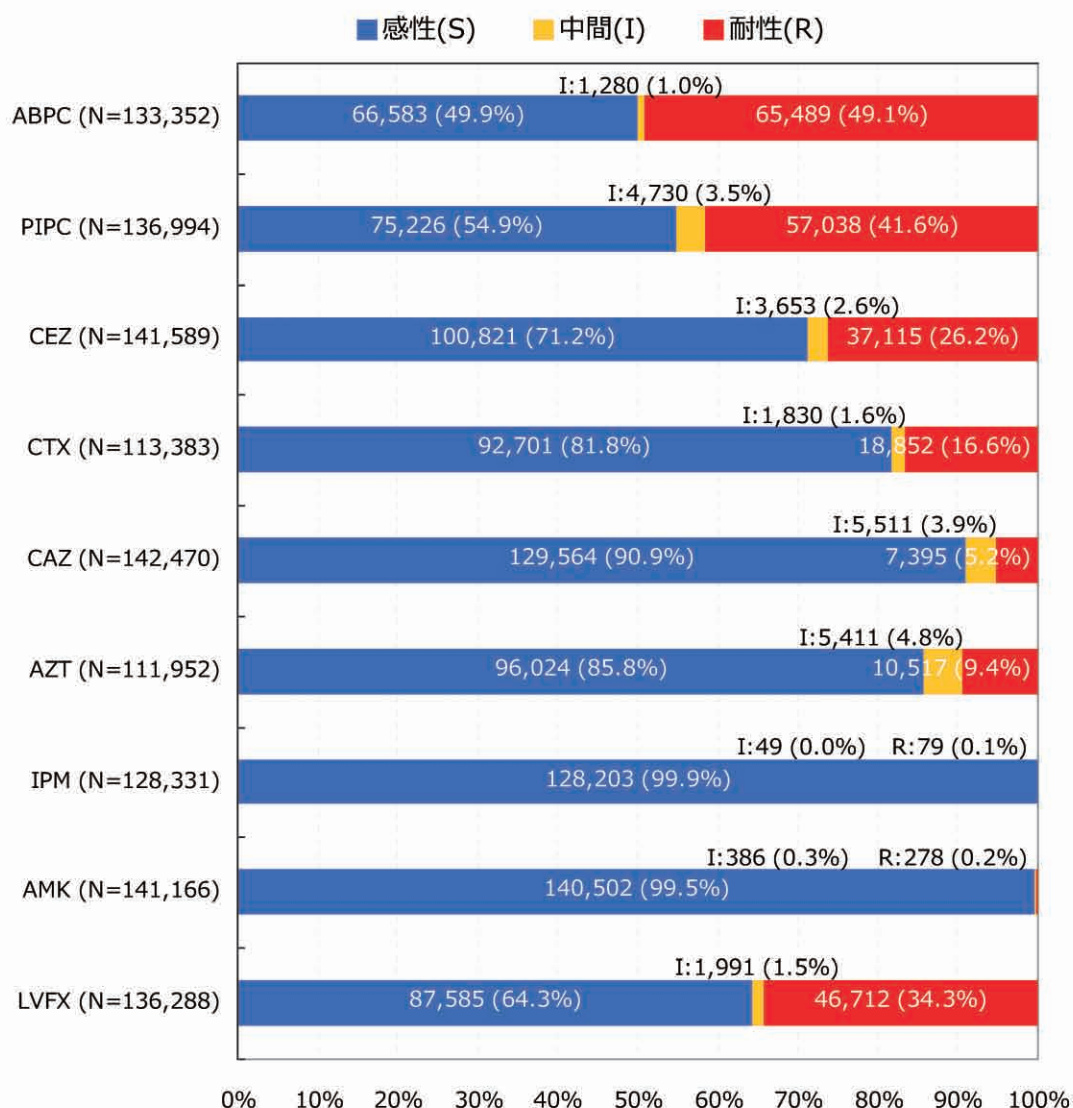
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*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

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

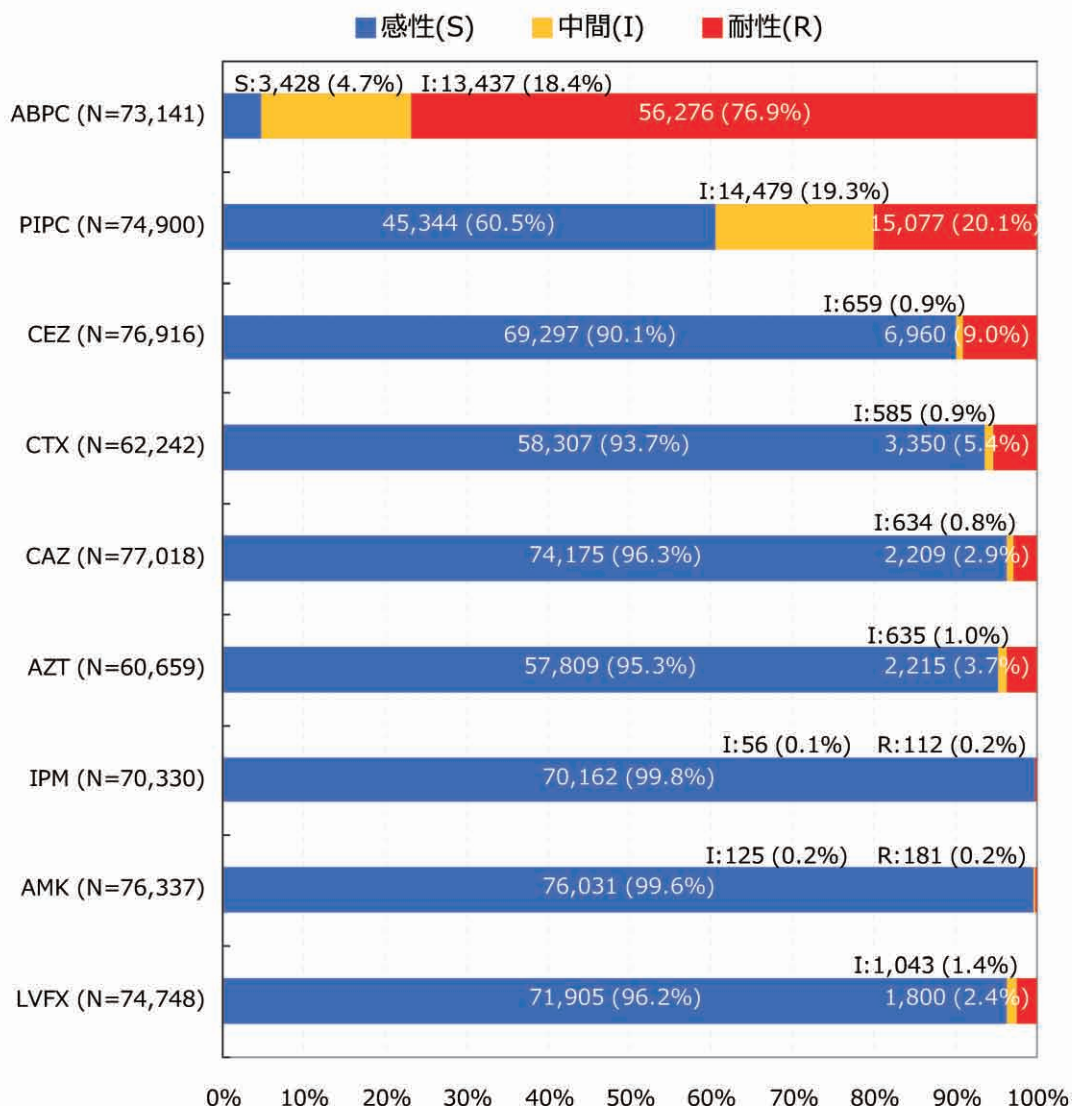
† 菌名コード : 2001～2007と報告された菌

公開情報 2012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 †



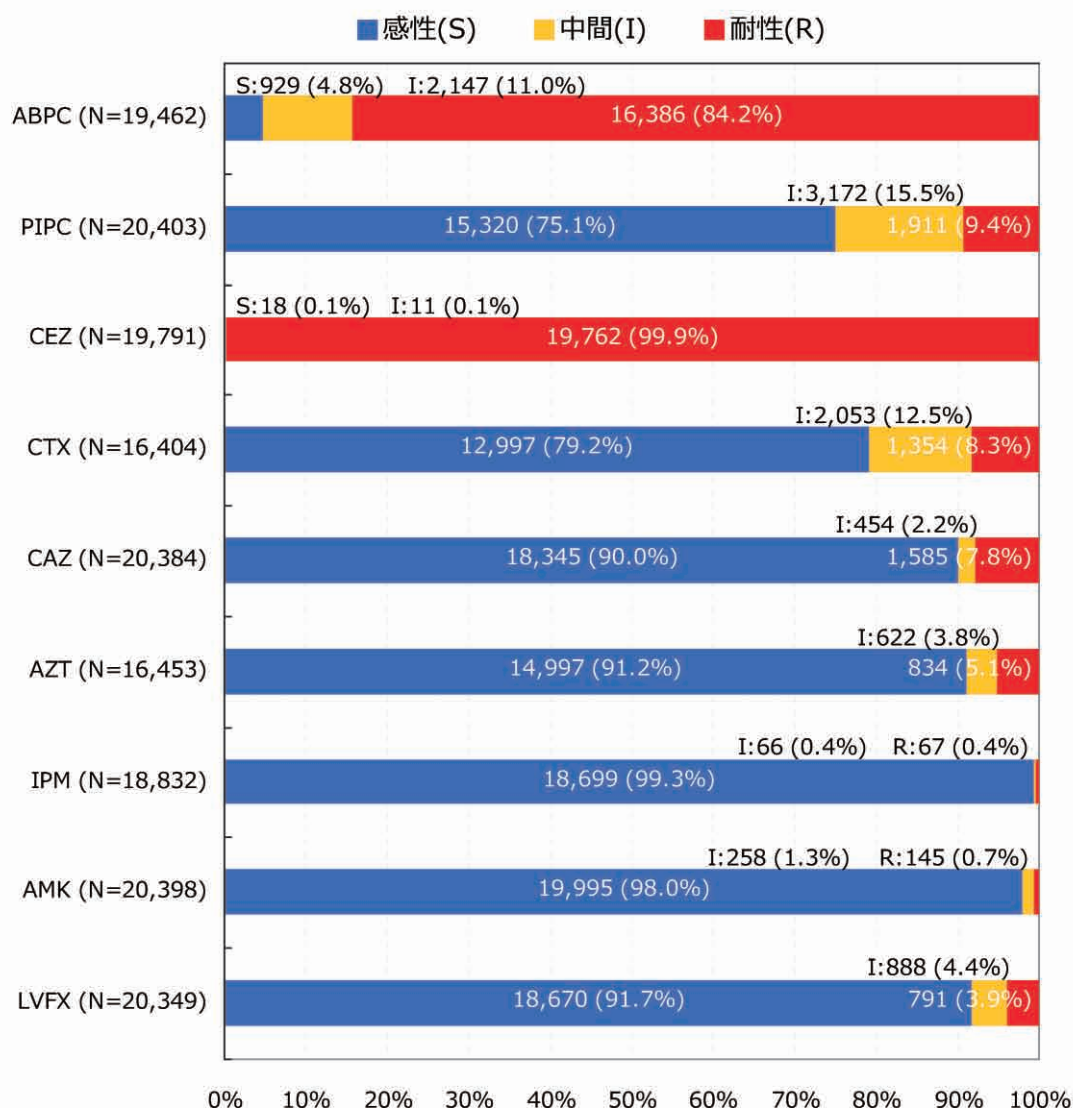
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*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

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Serratia marcescens †



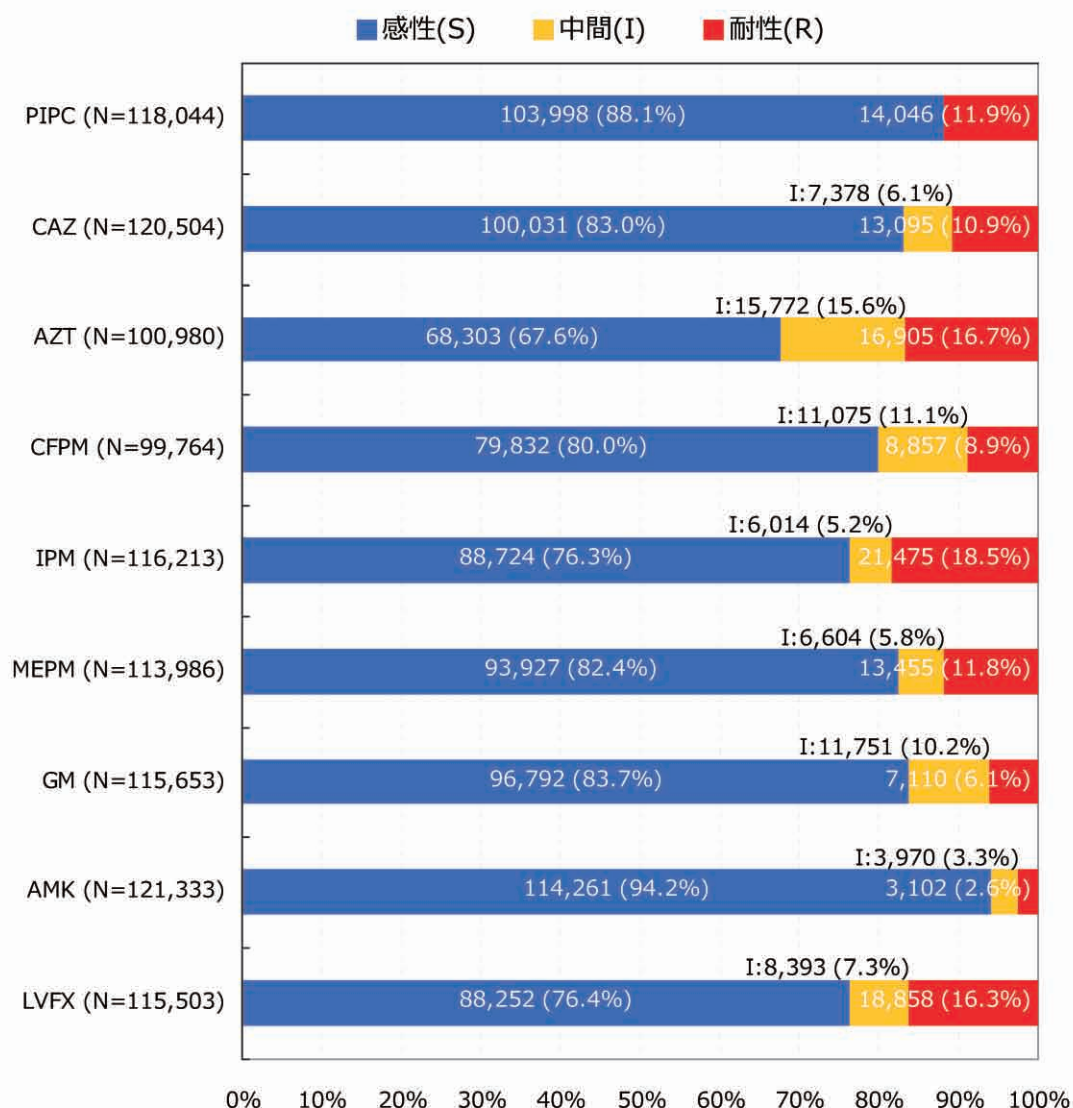
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*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

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Pseudomonas aeruginosa †



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

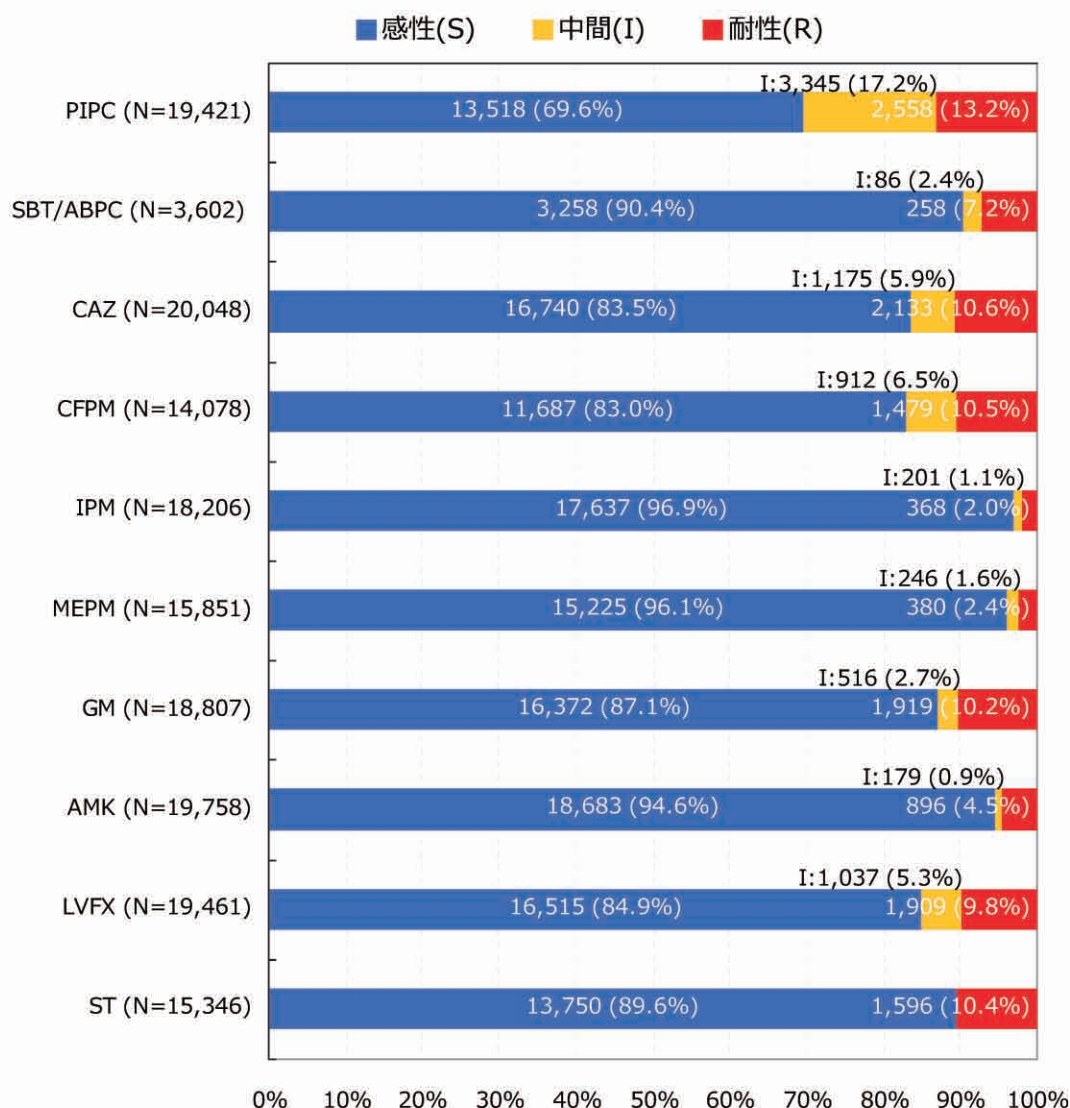
† 菌名コード: 4001と報告された菌

公開情報 2012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*

Acinetobacter spp. †



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

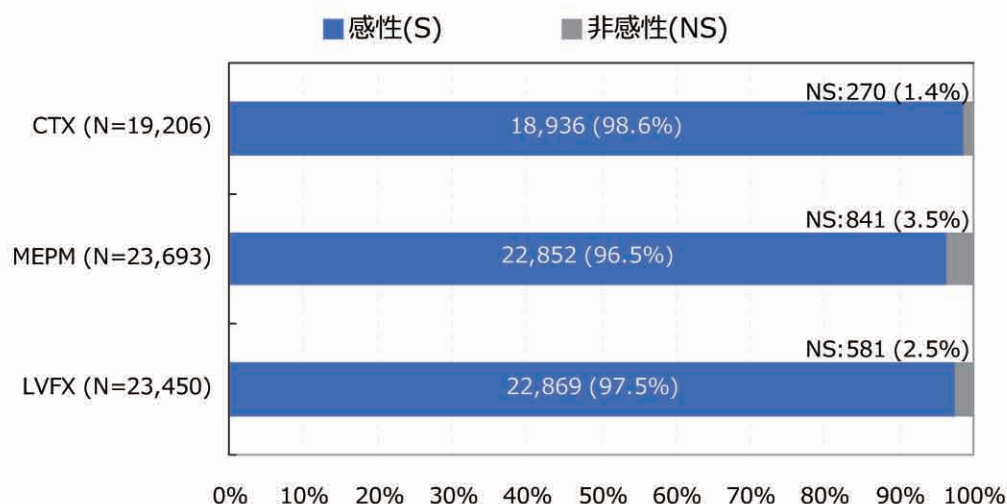
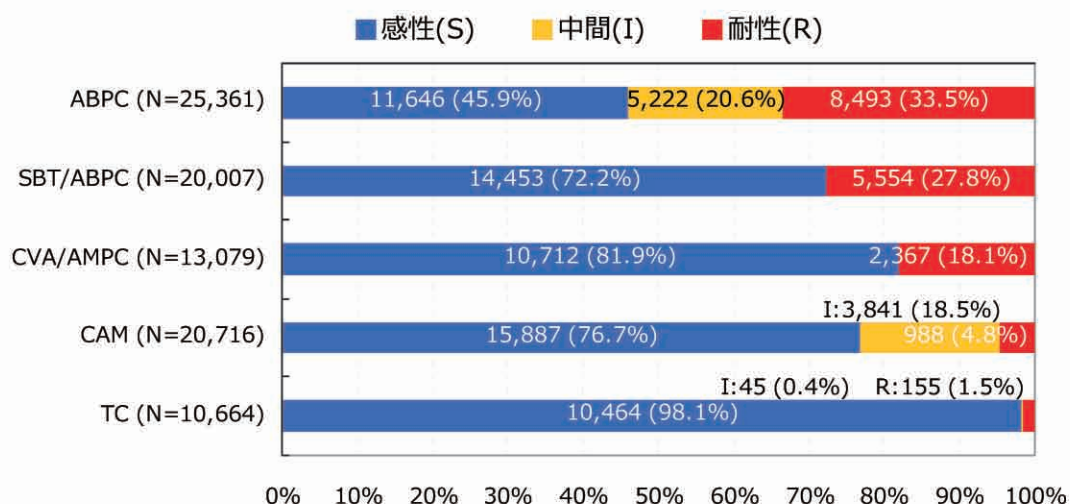
† 菌名コード : 4400～4403と報告された菌

公開情報 2012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*

Haemophilus influenzae †



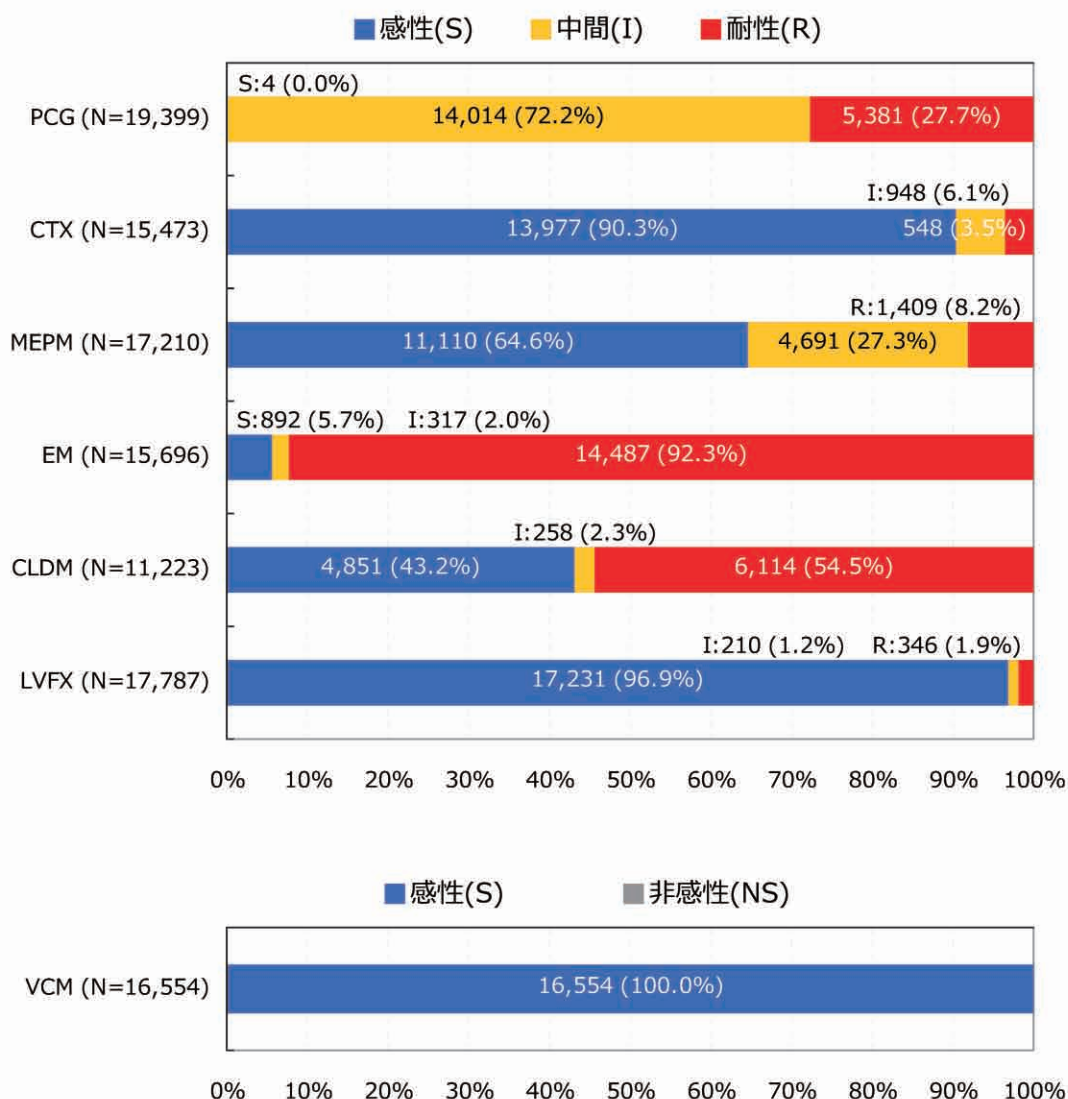
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*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 : 3201, 3202, 3203, 3205, 3208, 3211, 3214, 3217, 3220, 3223と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP)外来患者対象†



外来検体で、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: 1131と報告され抗菌薬コード: 1201 (ベンジルペニシリン) の感受性結果「I」「I or R」「R」の菌

【巻末資料 1 微量液体希釈法に基づく耐性菌の判定基準】

菌名*	概要*	微量液体希釈法 MIC 値	菌名コード Ver.4.0
MRSA	MPIPC が "R" の <i>Staphylococcus aureus</i> 又は選択培地で MRSA と確認された菌	MPIPC $\geq 4\mu\text{g/ml}$	1301 1303
VRSA	VCM が微量液体希釈法で "R" の <i>S. aureus</i>	VCM $\geq 16\mu\text{g/ml}$	1301,1303-1306
VRE	下記のいずれかの条件を満たす <i>Enterococcus</i> spp. ・ VCM が微量液体希釈法で耐性† ・選択培地で VRE と確認された菌 注) 種の同定が行われていない <i>Enterococcus</i> sp. は除く	VCM $\geq 16\mu\text{g/ml}$ †	1201,1202,1205, 1206,1209,1210, 1213-1217
PRSP	PCG が微量液体希釈法で耐性† の <i>Streptococcus pneumoniae</i>	PCG $\geq 0.125\mu\text{g/ml}$ †	1131
MDRP	下記全てに該当する <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1. カルバペネム系 (IPM, MEPM の何れか) が "R" 2. アミノグリコシド系の AMK が微量液体希釈法で耐性† 3. フルオロキノロン系 (NFLX, OFLX, LVFX, CPFX, LFLX, GFLX の何れか) が "R"	1. IPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$, MEPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$ 2. AMK $\geq 32\mu\text{g/ml}$ † 3. NFLX $\geq 16\mu\text{g/ml}$, OFLX $\geq 8\mu\text{g/ml}$, LVFX $\geq 8\mu\text{g/ml}$, LFLX $\geq 8\mu\text{g/ml}$, GFLX $\geq 8\mu\text{g/ml}$, CPFX $\geq 4\mu\text{g/ml}$	4001
MDRA¶	下記全てに該当する <i>Acinetobacter</i> spp. 1. カルバペネム系 (IPM, MEPM の何れか) が "R" 2. アミノグリコシド系の AMK が微量液体希釈法で耐性† 3. フルオロキノロン系 (LVFX, CPFX, GFLX の何れか) が "R"	1. IPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$, MEPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$ † 2. AMK $\geq 32\mu\text{g/ml}$ † 3. LVFX $\geq 8\mu\text{g/ml}$, CPFX $\geq 4\mu\text{g/ml}$, GFLX $\geq 8\mu\text{g/ml}$	4400-4403
カルバペネム 耐性緑膿菌	IPM または MEPM が "R" の <i>P. aeruginosa</i>	IPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$, MEPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$	4001
カルバペネム 耐性セラチア	IPM または MEPM が "R" の <i>Serratia marcescens</i>	IPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$, MEPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$	2101
第三世代セファ ロスポリン耐性 肺炎桿菌	CTX が "T" か "R" ‡ 又は CAZ が "R" の <i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX $\geq 16\mu\text{g/ml}$ CAZ $\geq 32\mu\text{g/ml}$	2351

菌名*	概要*	微量液体希釈法 MIC 値	菌名コード Ver.4.0
第三世代セファ ロスポリン耐性 大腸菌	CTX が "T" か "R", 又は CAZ が "R" の <i>Escherichia coli</i>	CTX $\geq 16\mu\text{g/ml}$ CAZ $\geq 32\mu\text{g/ml}$	2001-2007
フルオロキノロ ン耐性大腸菌	フルオロキノロン (NFLX, OFLX, LVFX, LFLX, GFLX, CPFX) の何れかが "R" の <i>E. coli</i>	NFLX $\geq 16\mu\text{g/ml}$, OFLX $\geq 8\mu\text{g/ml}$, LVFX $\geq 8\mu\text{g/ml}$, LFLX $\geq 8\mu\text{g/ml}$, GFLX $\geq 8\mu\text{g/ml}$, CPFX $\geq 4\mu\text{g/ml}$	2001-2007

*原則 S,I,R の判定は CLSI2007 (M100-S17) に準拠

† 感染症発生動向調査の基準に準拠

‡ 菌名は以下の通り

MRSA : Methicillin-resistant *S. aureus* メチシリン耐性黄色ブドウ球菌
 VRSA : Vancomycin-resistant *S. aureus* バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌
 VRE : Vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. バンコマイシン耐性腸球菌
 PRSP : Penicillin-resistant *S. pneumoniae* ペニシリン耐性肺炎球菌
 MDRP : Multidrug-resistant *P. aeruginosa* 多剤耐性緑膿菌
 MDRA : Multidrug-resistant *Acinetobacter* spp. 多剤耐性アシネトバクテラ属

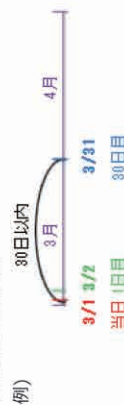
¶ MDRA の集計は以下のように変更された。

薬剤判定基準 (①～③の全てに条件を満たす)	適応時期
① IPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$ 又は MEPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$ ② AMK $\geq 64\mu\text{g/ml}$ ③ LVFX $\geq 8\mu\text{g/ml}$ 又は CPFX $\geq 4\mu\text{g/ml}$	四半期報 2007 年 7-9 月～2010 年 10-12 月 年報 2007 年～2009 年
① IPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$ 又は MEPM $\geq 16\mu\text{g/ml}$ ② AMK $\geq 32\mu\text{g/ml}$ ② LVFX $\geq 8\mu\text{g/ml}$ 又は CPFX $\geq 4\mu\text{g/ml}$ 又は GFLX $\geq 8\mu\text{g/ml}$	四半期報 2011 年 1-3 月～現在 年報 2010 年～現在

【巻末資料 2 公開情報の集計方法について】

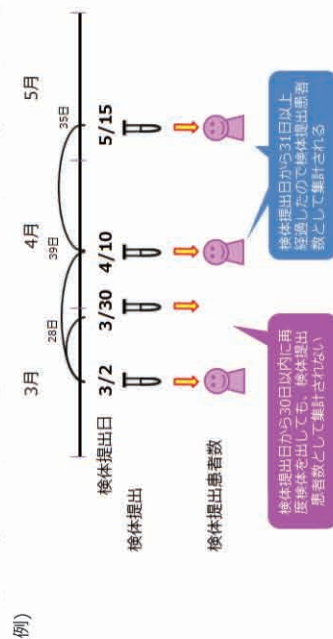
1. 日数の数え方

検体提出日の翌日を 1 日目とする。検体提出日が 3 月 1 日とすると、1 日目が 3 月 2 日、30 日目が 3 月 31 日となる。



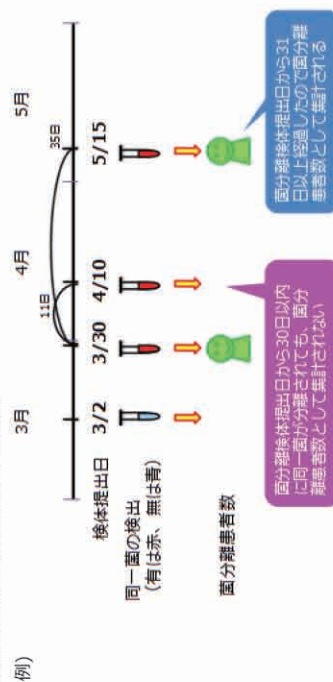
2. 検体提出患者数

検体提出患者数は、検体の種類や菌分離の有無に関わらず検体(入院検体)が提出された患者の数である。検体提出患者数は重複処理を行っており、30 日以内の同一患者からの複数の検体提出は 1 件とする。



3. 菌分離患者数

菌分離患者数も検体提出患者と同様の重複処理を行い、30 日以内に同一患者から同一菌が複数回検出された場合、菌分離患者数は 1 件とする。耐性菌分離患者数は、耐性菌の基準に合致する菌をまず抽出し、その中で上記重複処理を行っている。



4. 抗菌薬感受性検査結果をもとにした同一菌と異なる菌との区別

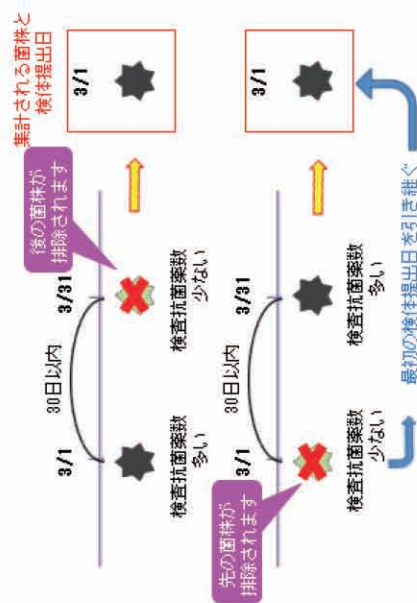
30 日以内に同一患者から同一菌が検出された場合であっても、検査抗菌薬感受性結果に 1 つ以上不一致(下記①～④のいずれかに該当)がある場合は異なる菌株として集計される。

- ① MIC 値に 4 倍以上の違いがある
ただし、 $MIC > 2$ は $MIC \geq 4$ と考え、判定時は $MIC = 4$ として扱う
また、 $MIC < 16$ は $MIC \leq 16$ と考え、判定時は $MIC = 16$ として扱う
- ② SIR 判定では「S と R」の組み合わせ
- ③ +/- 判定では「- と ++」または「+ と +++」または「- と +++」の組み合わせ
- ④ 共通する検査抗菌薬数が 5 未満

5. 抗菌薬感受性検査結果の重複処理

検体提出日が先の菌株の検査抗菌薬数が (30 日以内) 後の菌株の検査抗菌薬数より多い場合、後の菌株の抗菌薬感受性検査結果は排除する。また、検体提出日が後の菌株の検査抗菌薬数が (30 日以内) 先の菌株の検査抗菌薬数より多い場合、先の菌株の抗菌薬感受性検査結果を排除するが、先の検査の検体提出日を引き継ぐ。

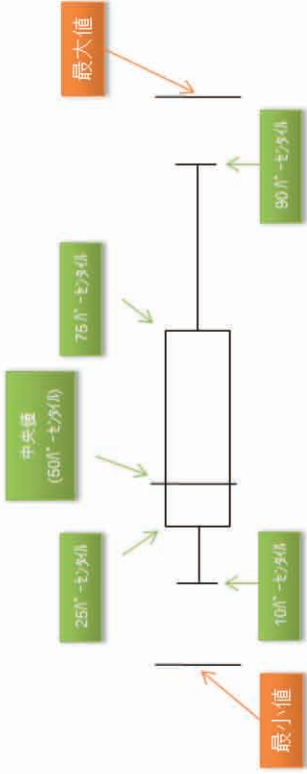
例)



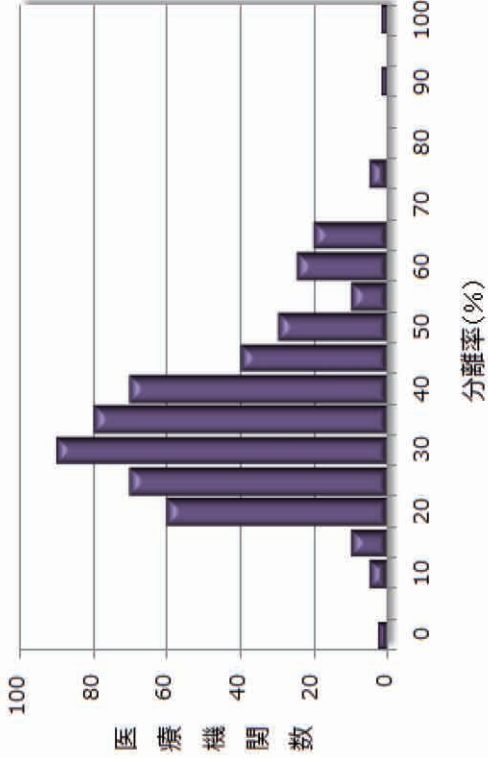
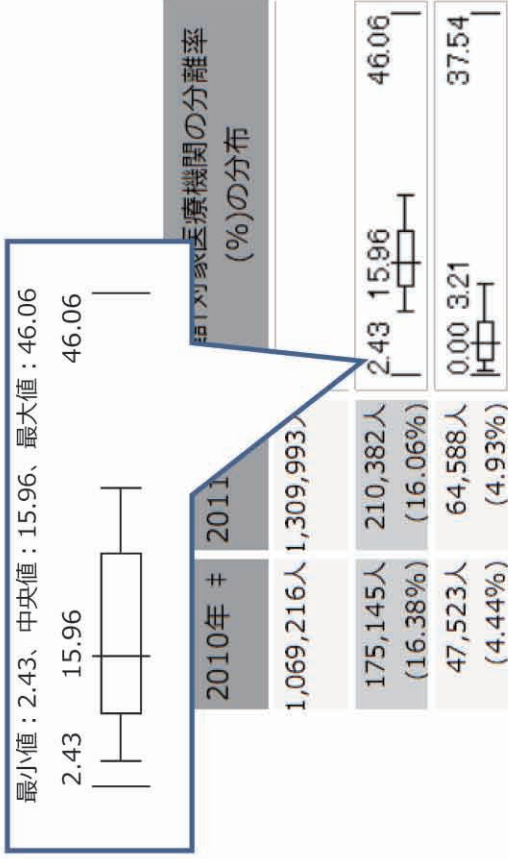
【巻末資料 3 箱ひげ図について】

1. 箱ひげ図について

集計対象医療機関のデータのばらつきを示し、集計対象医療機関における自施設の位置を確認することができます。



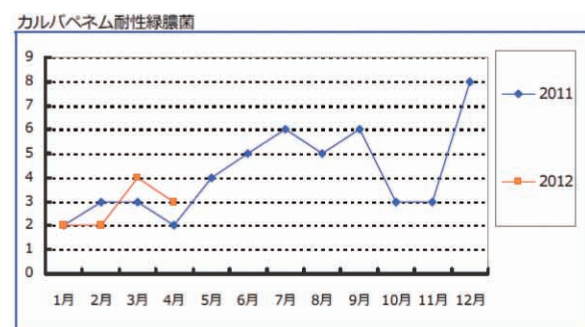
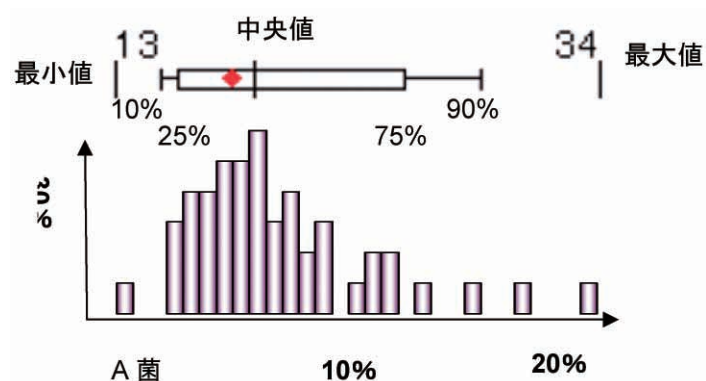
2. 公開情報の箱ひげ図



※ パーセンタイル：値を小さいものから大きいものへと順番に並べ、全体を 100 として何番目であるかを表したものである。
例えば、10パーセンタイルは、全体を 100 として小さいほうから数えて 10 番目の計測値を示している。

JANIS 還元情報

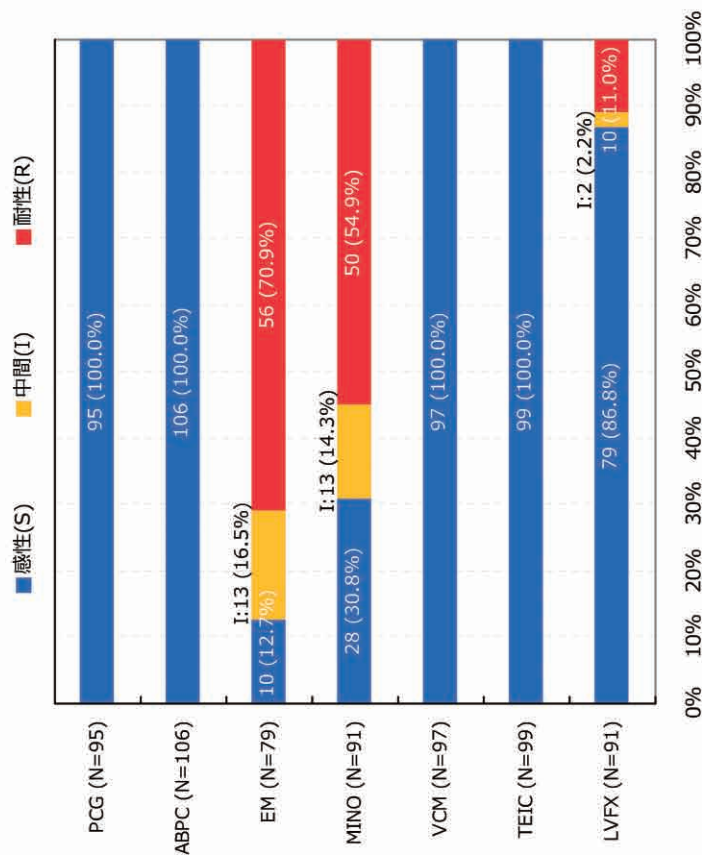
参加医療機関には個別に、その施設の集計結果及び全国の状況と比較したデータを還元情報として提供している。還元情報は、月報、四半期報、年報を作成して提供している。月報は通常データ送信後 48 時間以内に作成され、ダウンロード可能にしている。還元情報では、主要な



耐性菌について自施設のデータと全国データとの比較を箱髭図で示している（左図）。箱髭図では、自施設のデータを赤色の点で示し、全国データと比べてどの程度高いか低いかが分かるようにしている。また、耐性菌の分離数の推移をグラフにして、増減が分かるようにしている（左図）。耐性菌分離のデータは csv ファイルでも提供し、それぞれの医療機関で独自に図の作成に使えるようにしている。また、主要な菌種について参加医療機関ごとのアンチバイオグラムを作成している。次項に例として、ある医療機関の還元情報年報の中のアンチバイオグラムのデータを紹介する。*Acinetobacter* 属菌では、前出の国内全体のデータと比較すると、IPM、MEPM の耐性の割合がそれぞれ 6.0%、7.0%と、比較的高いことが分かる。検査部門では、検査室で分離された入院患者由来の全ての菌の情報を集計しているため、結果データには感染症を発症した患者からの分離数だけでなく保菌者からの分離数も含まれる。そのため、この集計結果の情報は院内感染の原因となる菌に関して全体の状況を示す。これらの検査部門データに加えて実際の感染症発症者についての情報を合わせることで、実態が把握しやすくなる。このように、JANIS の公開情報、還元情報で、感染症の状況を把握し、感染対策の必要性や効果を評価する事が出来る。

3. 主要菌の抗菌薬感受性*

Enterococcus faecalis †

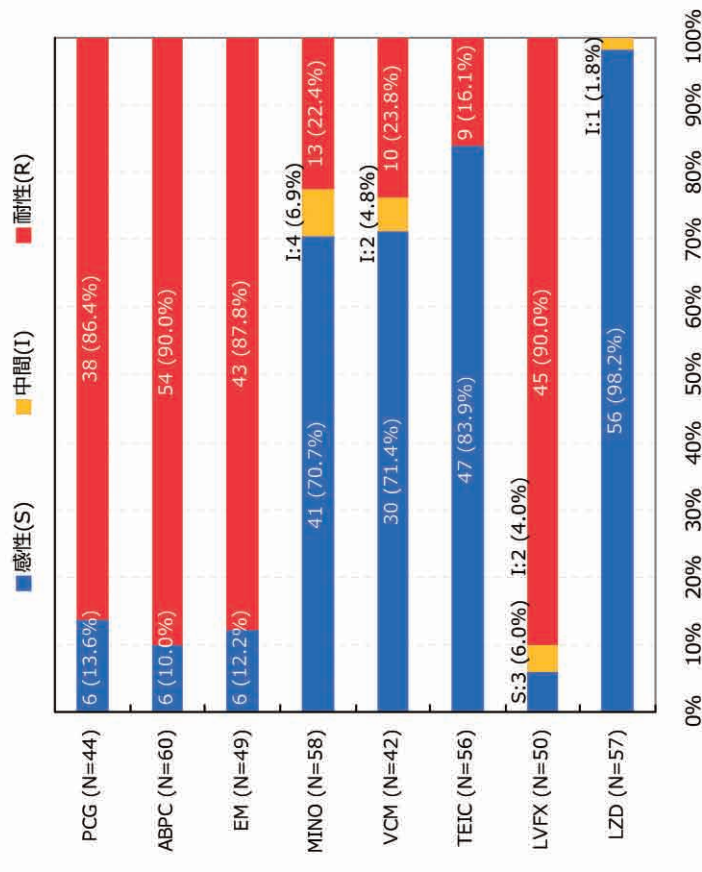


入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*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: 1201, 1202と報告された菌

Enterococcus faecium †



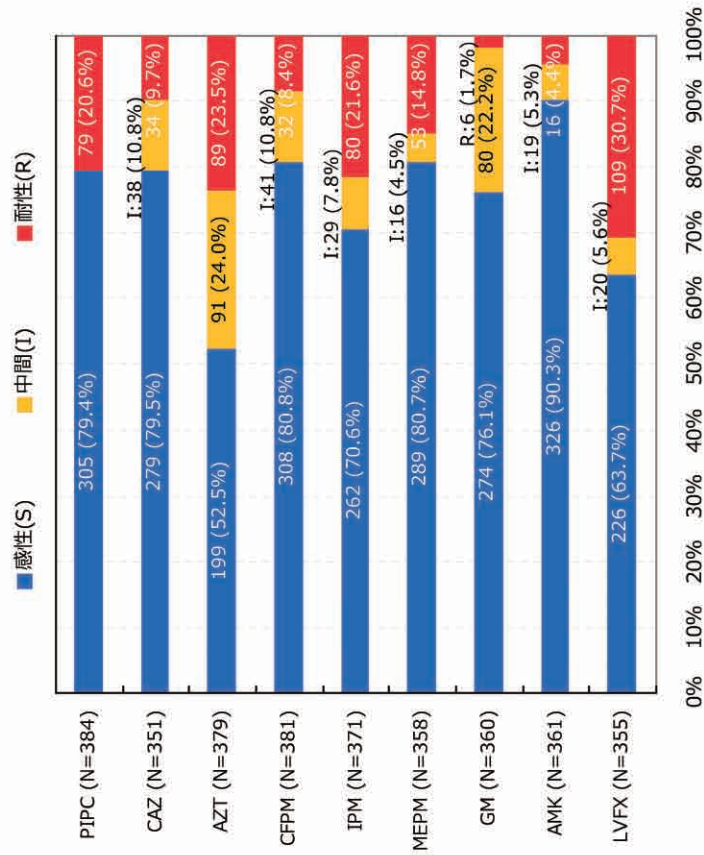
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*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

3. 主要菌の抗菌薬感受性*

Pseudomonas aeruginosa †



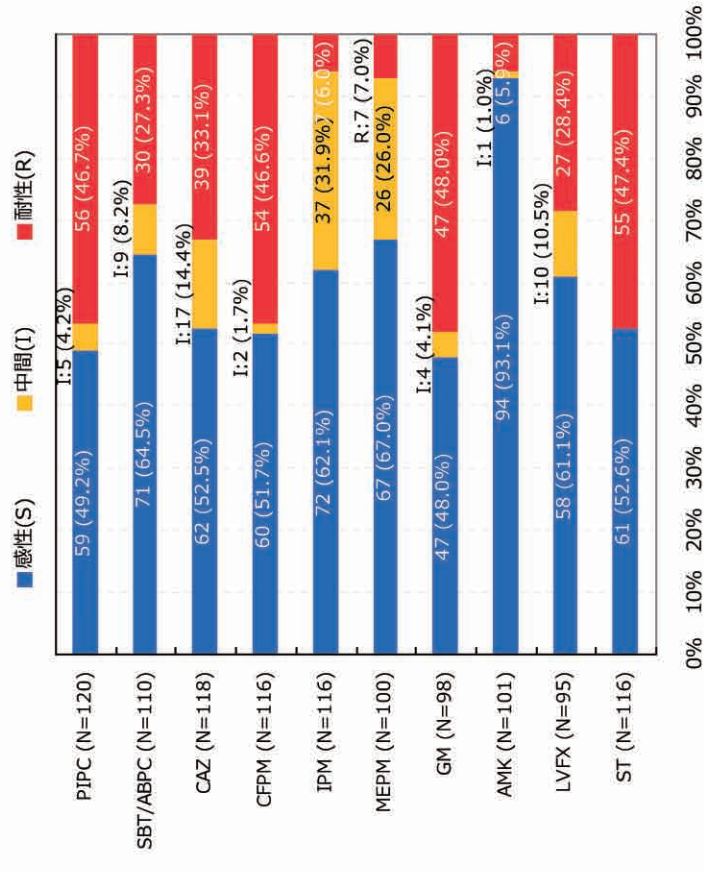
入院後で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている後体を集計

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: 4001と報告された菌

Acinetobacter spp. †



入院後で、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後体を集計

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: 4400～4403と報告された菌

おわりに

JANIS は、社会及び医療現場が感染症対策のために必要とする情報を出来るだけ分かりやすい形で提供することを目指している。これまで、参加医療機関向けに発行しているニュースレターや学術集会などを通じて広報活動を行ってきたが、今後さらに医療現場や、その他感染症対策に関わる方々の意見を積極的に取り入れ、公開情報、還元情報の改良を続けていきたいと考えている。皆様から JANIS について要望をお寄せ頂ければ幸甚である。

寄生虫感染症と薬剤耐性 2

—ミトコンドリアをもたない原虫に対する薬剤療法と耐性—

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。原核細胞である細菌の生物学的特徴を標的とするペニシリン、テトラサイクリン等おもだった抗生物質は、寄生虫にはまったく効果を発揮しない。原虫 protozoan は単細胞の寄生虫であり、根足虫類、孢子虫類、鞭毛虫類、そして繊毛虫類に分類される。根足虫とはアメーバを意味し、赤痢アメーバや、角膜炎を起こすアカントアメーバが含まれる。鞭毛虫にはランブル鞭毛虫や膾トリコモナスが、孢子虫にはマラリアの原因となるマラリア原虫やトキソプラズマが含まれる。繊毛虫類は家畜の病原体として重要な大腸バランチジウムが存在するが、ヒトにはほとんど感染することはない。本稿では、根足虫類全般および鞭毛虫類の一部、低酸素に適応してきた原虫に対する薬物療法と薬剤耐性について概説する。

1. 赤痢アメーバ

赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) は熱帯や亜熱帯の衛生状態の悪いところに蔓延しており、流行域への渡航により感染する。飲水、食物中のシストとよばれる形態の原虫を経口摂取すると、小腸内で脱嚢し栄養型となり大腸に寄生して二分裂で増殖する。栄養型は大腸組織に浸潤、破壊し (*histolytica* の語源は、histo = 組織、lytic = 破壊、である)、腸粘膜は脱落、粘血便を主徴とするアメーバ性赤痢を発症する。栄養型が血行性に転移すると、アメーバ性肝膿瘍等の腸外アメーバ症を生じる。脳、肺などでも膿瘍を形成する。腸管内の栄養型は、免疫による排除が進むとシストに変換する。治療の有無によらずシストを排出し続ける無症候性キャリアになることもある。一般的に、赤痢菌による赤痢と異なり全身状態は良好であることが多い。

2. ランブル鞭毛虫

ジアルジア下痢症はランブル鞭毛虫 (*Giardia lamblia*) の感染による。熱帯・亜熱帯域に分布する。コレラとともに旅行者下痢症の主な起因病原体である。赤痢アメーバと同

様、飲水中や食物中のシストを経口摂取することで感染する。主たる症状は、小腸上部に寄生する栄養型による胃腸炎で、腹痛や下痢がみられる。赤痢アメーバと異なり組織侵入性はなく血便はみられない。易感染宿主では、多数の栄養型が小腸粘膜を覆い尽くし、吸収不全症候群を呈し、重篤となることもあり、日和見感染症としての一面もみられる。

3. 膣トリコモナス

膣トリコモナス (*Trichomonas vaginalis*) による膣炎は全世界中で見られる、重要な性行為感染症である。他の原虫と異なり、栄養型しか存在しない。したがって、感染は性行為による接触で栄養型が伝播することによってのみ起こる。主症状は膣炎であるが、妊婦では早産、低体重出生児、胎児死亡率の増加が認められる。トリコモナスによる膣炎自体は軽症であるが、それに細菌感染が二次的に加わると重症化する。膣内は、常在のデーデルライン桿菌叢が嫌氣的にグリコーゲンを分解し乳酸を作ることによって酸性化に傾き、抗菌性が保たれている。トリコモナスは栄養源としてグリコーゲンを消費するので、デーデルライン桿菌叢の乳酸産生ができず抗菌性が保てず、細菌が繁殖を許し二次感染が起こる。

4. メトロニダゾールの作用機序

上記三種の原虫に対しては、ニトロイミダゾール薬であるメトロニダゾール（フラジール®）、チニダゾール（ハイシジン®）が第一選択となる（図1）。これらの薬剤は抗菌薬として *Clostridium difficile* による偽膜性腸炎の治療やピロリ菌駆除も使用される。細菌に対する作用機序としては、メトロニダゾールの持つニトロ基が関与するとされる。細菌の持つニトロ還元酵素系によりニトロ基がニトロソ基となり、高反応性のラジカルを生じる。これにより、細菌の DNA 二本鎖を切断し細胞死を誘導する（文献1）。細菌と異なり核膜を有する原虫の DNA にアクセスできるかは不明であるが、原虫における作用機序も明らかとなっている。

これら三種の原虫の特徴は、腸管や膣粘膜といった低酸素環境下に寄生していることであり、進化の過程で好氣的エネルギー産生を行うミトコンドリアを破棄して、独特の細胞内小器官を獲得してきた。赤痢アメーバやランブル鞭毛虫ではミトコンドリアの痕跡とされるマイトソームと呼ばれる細胞小器官を、膣トリコモナスはヒドロゲノソームを持つ（文献2—4）。いずれも、低酸素下でのエネルギー産生を司る小器官である。これらの器官ではエネルギー産生に伴い、電子の受け渡しも行われていて、酸化還元システムが豊富に存在することも知られている。これらの酸化還元システムによってメトロニダゾールが活性化される。とくに、膣トリコモナスのヒドロゲノソームでは、ヒドロゲナーゼに電子を受け渡すことで水素を産生できる、還元型のフェレドキシンの酸化に共役して、メトロニダゾールのニトロ基がニトロソ基に変換される。これらの小器官には DNA は存在せ

ず、小器官内の標的蛋白質を不活性化する。高反応性のニトロソ基は細胞質にも移動し、細胞質内の分子にも影響する（図2）。ミトソーム、ヒドロゲノソームにはエネルギー産生だけでなく、生存に関わる酵素反応も司っており、これらが障害されることで抗原虫作用が発揮される。

5. メトロニダゾール耐性

赤痢アメーバに関しては、臨床上問題となるメトロニダゾール耐性は認めない。しかしながら、試験管内でメトロニダゾール濃度を徐々に上げて赤痢アメーバを培養すると実験的な薬剤耐性赤痢アメーバが得られる。耐性アメーバでは、活性酸素やラジカルを消去する分子群、スーパーオキシドディスムターゼやペルオキシレドキシンの発現の著しい増加と、フラビン還元酵素とフェレドキシン1の発現の低下が認められた（文献5）。これらの事実からも、メトロニダゾールの活性化には酸化還元システムが、作用機序には高反応性の活性酸素が必要であることが示唆される。

ランブル鞭毛虫に関しては臨床的に、メトロニダゾール不応答性の患者がいることが報告されている。患者からの分離株を用いた研究では、メトロニダゾールの取り込みの低さと耐性に相関が認められた（文献6）。ランブル鞭毛虫におけるメトロニダゾールの活性化にはピルビン酸フェレドキシン酸化還元酵素の関与が知られているが、この活性が低い原虫では耐性となっていた。この酵素と耐性の相関性は、試験管内で誘導したメトロニダゾール耐性株でも確認された（文献7、8）。臨床的には、耐性原虫に対して作用機序の異なるキナクリン、アルベンダゾールが投与される。

臈トリコモナスのメトロニダゾール耐性も報告されており、他のニトロイミダゾール薬に対する交差耐性も頻繁に見られる（文献9）。臨床分離株の耐性メカニズムはよく分かっていないが、試験管内で誘導した耐性トリコモナスではヒドロゲノソームの機能不全が認められる（文献10）。現行ではニトロイミダゾール薬しか効果が見られないので、薬剤耐性は重要な問題となりうる。

6. 多剤耐性赤痢アメーバ

赤痢アメーバに対して、メトロニダゾール以外にも使用される薬剤がある。エメチンは催吐剤としてトコンという植物から得られるアルカロイドで強力な殺アメーバ効果を持つ。作用機序は、mRNAにそったリボゾームの移動を阻害することで蛋白質の合成を抑制する。コルヒチンも植物由来のアルカロイドで、微小管の再構築を阻害することでアメーバ運動を抑制し、抗アメーバ作用を示す。フロ酸ジロキサニドは消化管から吸収されることなく、経口投与することで腸内に高濃度で存在する。組織に侵入したアメーバはメトロニダゾールが効果を示すが、腸管に存在するアメーバに対してはこの薬剤が有効である。とくにシストに対する毒性は高く、シストを排出する無症候性キャリアに投与され

る。パロマイシン、ヨードキノールもシスト排出を抑制するために使用される。これら複数の薬剤に対して耐性を持つ多剤耐性（MDR：Multi Drug Resistance）赤痢アメーバが実験的に作成され、その詳細なメカニズムが明らかにされてきた。

この MDR アメーバはエメチン、コルヒチン、ジロキサニド、ヨードキノールに対して耐性であり、これら薬剤の取り込み実験で、細胞内濃度が感受性アメーバに比べ低かった。この耐性は、カルシウム拮抗剤のベラパミルによってキャンセルされ、腫瘍細胞（文献11）や他の原虫（文献12）で見られる多剤耐性と類似した性質を持つことも明らかになった。これらの MDR は P-glycoprotein（Pgp）の高発現と関連していた。Pgp は細胞膜に存在する ATP 依存性の排出ポンプで、薬剤を排出することで薬剤の細胞内濃度を低くすることで耐性を賦与していた（文献11）。構造的には、6 回膜貫通型の α ヘリックスと ATP 結合カセットを持つサブユニット 2 つからなるホモ 2 量体で存在する（文献13）。

Pgp 発現による典型的な MDR の特性を備えていたことから、赤痢アメーバにおける MDR も Pgp の発現によることが想定された。これは、赤痢アメーバで複数の Pgp 遺伝子（*EhPgp1*, *EhPgp2*, *EhPgp5*, *EhPgp6*）がクローニングされたことで証明された。*EhPgp* 蛋白は哺乳類の Pgp とは約40%、リーシュマニア Pgp とは15%程度の相同性しかなかった（文献14）。しかしながら、コンピュータ上での立体構造解析では6回膜貫通ドメインと ATP 結合ドメインからなる特徴的な構造を取り、ヒト Pgp との構造的相同性が示された（文献15）。実際に MDR アメーバでは *EhPgp1*、*EhPgp5* が過剰発現しており、MDR に重要な役割を果たしていることが示された（文献16）。したがって、赤痢アメーバにおいても細胞内に取り込まれた多種の薬剤を排出することで薬剤耐性を示す。しかしながら、臨床的に問題となるメトロニダゾール耐性への Pgp による MDR の関与は少ないとされている。

7. 角膜炎起因アメーバ

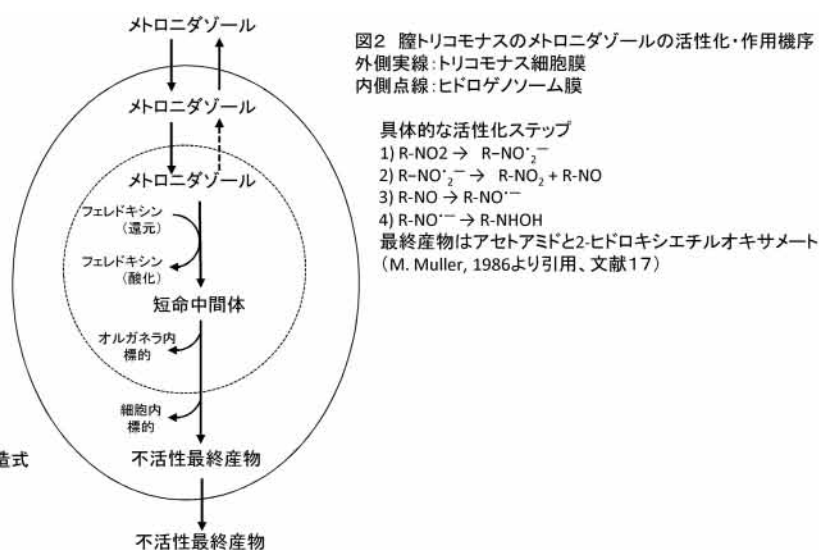
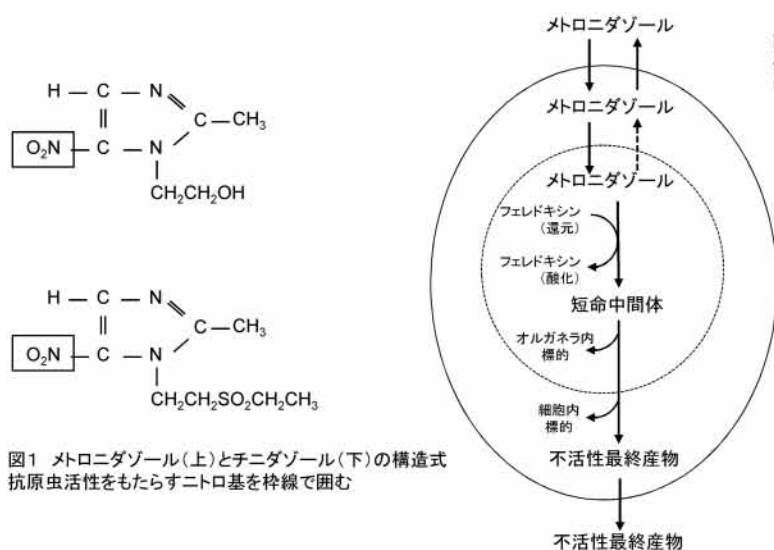
アカントアメーバ属（*Acanthamoeba* spp）は通常、自由生活を営んでおり自然界に存在するがヒトには寄生することはない。角膜の微小な傷口から *A. castellanii* や、*A. polyphaga* が感染することで角膜炎を生じる。角膜は移植が容易に出来ることから分かるように、免疫応答がほとんど起こらない場所である。そこでは、本来は自由生活性のアメーバも増殖することが出来、病原性を発揮する。毛様充血や眼痛を生じ、放置すると角膜潰瘍や穿孔に至る。世界中で発生がみられ、日本でも増加傾向である。とくに、コンタクトレンズ装用者で発生率が高い。コンタクトレンズ保存液に環境中のアメーバのシストが混入し、汚染されたレンズ装用により感染が成立する。

薬物治療にはフルコナゾールの外用やミコナゾールの内服等、抗真菌薬が用いられる。真菌に対しては、細胞膜成分であるエルゴステロールの生合成を阻害することで効果を発揮するが、アメーバに対する薬効はよく分かっていない。これらには殺アメーバ効果は少なく、静アメーバ効果を持つのみである。重症例には界面活性剤である

polyhexamethylene biguanide (PHMB) や消毒薬の chlorhexidine digluconate (CHX) の点眼がなされる。

おわりに

以上のように、アメーバならびにランブル鞭毛虫、膾トリコモナスに対する薬剤療法と薬剤耐性に関して概説した。メトロニダゾールはミトコンドリアを持たない原虫の進化した部分を標的としているため、耐性は出にくく臨床的にはさほど問題にはなっていない。しかし、今後、問題となる可能性もあり、新たな薬剤の開発も望まれている。



参考文献

1. Diniz CG, Santo SG, Pestana A, Farias LM, and Carvalho MRA. Chromosomal breakage in the *B. fragilis* group induced by metronidazole treatment. *Anaerobe* 6: 149-153, 2000.
2. Tovar J, Fischer A, and Clark CG. The mitosome, a novel organelle related to mitochondria in the amitochondrial parasite *Entamoeba histolytica*. *Mol. Microbiol.* 32: 1013-1021, 1999.
3. Tovar J, et al. Mitochondrial remnant organelles of *Giardia* function in iron-sulphur cluster assembly proteins. *Nature* 426: 172, 2003.
4. Lindmark DG, and Muller M. Hydrogensome, a cytoplasmic organelle of the anaerobic flagellate *Trichomonas foetus*, and its role in pyruvate metabolism. *J. Biol. Chem.* 248: 7724-7728, 1973.
5. Wassmann C, Hellberg A, Tannich E, and Bruchhaus I. Metronidazole resistance in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica* is associated with increased expression of iron-containing superoxide dismutase and peroxiredoxin and decreased expression of ferredoxin 1 and flavin reductase. *J. Bio. Chem.* 274: 26051-26056, 1999.

6. Boreham PF, Phillips RE, and Shepherd RW. Altered uptake of metronidazole in vitro by stocks of *Giardia intestinalis* with different drug sensitivities. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 82: 104-106, 1988.
7. Upcroft P, and Upcroft JA. Drug resistance and Giardia. Parasitol. Today 9: 187-190, 1993.
8. Upcroft P, and Upcroft JA. Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. Clin. Microbiol. Rev. 14: 150-164, 2001.
9. Dunne RL, Aunn LA, Upcroft P, O'Donoghue PJ, and Upcroft JA. Drug resistance in the sexually transmitted protozoan *Trichomonas vaginalis*. Cell Res. 13: 239-249, 2003.
10. Land KM, Clemens DL, and Johnson PJ. Loss of multiple hydrogenosomal proteins associated with organelle metabolism and high-level drug resistance in trichomonads. Exp. Parasitol. 97: 102-110, 2001.
11. Loo TW, and Clarke DM. Molecular dissection of the human multidrug resistance P-glycoprotein. Biochem. Cell Biol. 77: 11-23, 1999.
12. Ouellette M, Fase-Fowler R, and Borst P. The amplified H circle of methotrexate-resistant *Leishmania tarentolae* contains a novel P-glycoprotein gene. EMBO J. 9: 1027-1033, 1990.
13. Endicott JA, and Ling V. The biochemistry of P-glycoprotein-mediated drug resistance. Ann. Rev. Biochem. 66: 12-137, 1989.
14. Descoteaux S, Ayala P, Orozco E, and Samuelson J. Increase in mRNA of multiple EhPgp genes encoding P-glycoprotein homologues in emetine-resistant *Entamoeba histolytica* parasites. Gene 164: 179-184, 1995.
15. Descoteaux S, Ayala P, Orozco E, and Samuelson J. Primary sequences of two P-glycoprotein genes of *Entamoeba histolytica*. Mol. Biochem. Parasitol. 54: 201-212, 1992.
16. Orozco E, et al. Multidrug resistance in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Parasitol. Int. 51: 353-359, 2002.
17. Muller M. Reductive activation of nitroimidazoles in anaerobic microorganisms. Biochem. Pharmacol. 35: 37-41, 1986.

ヒトサイトメガロウイルスに対する新規薬剤

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

ヒトサイトメガロウイルス (HCMV) 感染症は臓器、あるいは造血幹細胞移植といった免疫不全で極めて重要な合併症の一つである。現在有用な薬剤として、ガンシクロビルやそのプロドラッグであるバルガンシクロビル、フォスカネットやシドフォビア等すべてウイルス DNA ポリメラーゼをそのターゲットにしている。それらの薬剤は有用であるにも関わらず、その重篤な副作用の問題から、その使用は限定的に成らざるを得ない。また、薬剤耐性ウイルスの出現の問題も依然として解決されておらず、ウイルス DNA ポリメラーゼをターゲットとしない新規の安全な抗 HCMV 薬が必要であり、そのことが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にも必要不可欠である。そこで、現在臨床試験中のウイルス DNA 複製をターゲットとしない 2 つの新規抗サイトメガロウイルス薬について簡単に概説する。

AIC246 (Letermovir)

低分子化合物 AIC246 は UL104 と相互作用する UL56 と UL89 で構成されるウイルスターミナーゼを阻害する。ウイルスターミナーゼはウイルスゲノムの特異的配列に作用して、ウイルスゲノムをユニットサイズに切断する。このことはウイルス粒子にユニットサイズのウイルスゲノムをパッケージングするために必要である。この薬剤はウイルス DNA 複製やウイルス遺伝子の発現には全く影響を与えないにも関わらず、ウイルスの増殖を著明に減少させる薬剤としてスクリーニングされた。この薬剤に対する耐性ウイルスを解析したところ、UL56 に変異があることが判明し、また UL56 に変異を導入した組換え HCMV でも同様のフェノタイプを示すことから (文献 1)、UL56 がその分子ターゲットであることが確定された。これまでに UL104, UL56 と UL89 のターミナーゼ複合体をターゲットとする薬剤として BDCRB と BAY 38-4766 が同定されていたが、これらの薬剤は UL56 自体をターゲットにしない。そこで、AIC246 はこれらの薬剤耐性ウイルスに対しても有効である。もちろん、既存のガンシクロビル (GCV) 等のウイルス DNA ポリメラーゼ阻害剤に耐性なウイルスに対しても有効である。17 の臨床分離株の抗 HCMV 活性をガンシクロビルと比較しても、プラーク形成能で比較した EC_{50} が 1000 倍以上低く (文献 2)、

臨床現場でのこの薬剤の有用性が非常に期待される。現在、バイエルからスピニアウトした AiCuris 社で造血幹細胞移植患者に対する phase IIB の臨床試験が行なわれている。

この薬剤を既存の DNA ポリメラーゼ阻害剤と比較した場合の有利な点として、この薬剤を投与してもすべてのウイルス遺伝子は発現するため、HCMV に対する細胞障害性 T 細胞 (CTL) を誘導できるのではないと推察される。ヒトの免疫不全で再活性化される HCMV の最も有用な治療法は、HCMV に対する自身の CTL を移入することであることはよく知られた事実であるので、抗ウイルス活性を持つと同時に、宿主の CTL も誘導可能な抗 HCMV 剤は、最も HCMV 感染症の治療にふさわしいのではないかと推察する。

Maribavir

この薬剤は EBV と HCMV に優れた抗ウイルス活性を持ち、HCMV の UL97 キナーゼに対し、非常に特異的な阻害剤である。GCV は HCMV の UL97 キナーゼによって一リン酸化され、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、三リン酸化核酸と競合してウイルス DNA の合成を阻害する (前稿参照)。そのため、GCV 投与時には UL97 に変異を持つ耐性株の出現があり、それらの薬剤耐性ウイルスに対してこの薬剤は有用である。ところが面白いことに、この薬剤に対する耐性ウイルスには UL97 よりも UL27 に変異がある場合がより高頻度に認められる。その理由は不明であったが、最近その可能性のある理由が報告された (文献 3)。以下にその報告を概説する。UL27 は Tip60 のプロテアソーム依存的分解を促進する。従って、UL27 に変異が導入されると、Tip60 が分解されなくなり、結果として p21^{Waf/CIP1} の発現量が減少する。そこで、UL97 でその機能を代用することのできる宿主サイクリン依存性キナーゼの発現量を低下させることが不十分となり、増加した宿主サイクリン依存性キナーゼは、低下した UL97 キナーゼ活性を補うことができるようになる。例えば、宿主 cdc2 は Rb 蛋白をリン酸化したり、核ラミナを分解したりする UL97 キナーゼの作用を代用することができるようになる、というものである。残念ながら、現在この薬剤は phase III の臨床試験をクリアできていないが、そのような否定的な臨床試験の結果が得られている現在でも、依然 UL97 は抗 HCMV 治療薬の良いターゲットであると考えられている。

参考文献

1. Thomas Goldner, et al. The Novel Anticytomegalovirus Compound AIC246 (Letermovir) Inhibits Human Cytomegalovirus Replication through a Specific Antiviral Mechanism That Involves the Viral Terminase. *Journal of Virology* 85(20):10884-10893. 2011
2. Manfred Marschall, et al. *In Vitro* Evaluation of the Activities of the Novel Anticytomegalovirus Compound AIC246 (Letermovir) against Herpesviruses and Other Human Pathogenic Viruses. *Antimicrobial agents and Chemotherapy* 56(2): 1135-1137. 2012
3. Reitsma JM, et al. Antiviral inhibition targeting the HCMV kinase pUL97 requires pUL27-dependent degradation of Tip60 acetyltransferase and cell-cycle arrest. *Cell Host Microbe*. 9:103-114. 2011

耐性菌 Q & A

(薬剤耐性菌研究会ホームページより；<http://yakutai.dept.med.gunma-u.ac.jp/society/QandA.html>)

Q 1：第三世代セフェムと第三世代セファロスポリンはどちらがうのですか？

A 1：セフェム系薬には、セファロスポリン系とセファマイシン系などが含まれます。その中で第二世代、第三世代、第四世代などと世代を付けて分類されているのは、セファロスポリン系薬についてです。したがって、第三世代セフェムではなく、第三世代セファロスポリンというのが、学術的に正確です。第三世代セファロスポリンは 1980 年代に数多く開発されましたが、当時、オキサセフェムであるラタモキシセフ（シオマリン）もグラム陰性菌に対し第三世代セファロスポリンと同様の抗菌スペクトルを有していたためか、7S 位にメトキシ基を有し、セファロスポリンとは異なり、セファマイシンに類似した骨格を有するにもかかわらず、1990 年頃には「第三世代セファロスポリン」に含めて分類されていた時期もありました。その矛盾を解決するため「第三世代セフェム」という用語が、我が国で「発明」されたのかもしれませんが、しかし、「第三世代セフェム」という用語は海外では耳にしたり目にしたりする事が少なく、現時点では日本固有の用語であるため、欧文論文を書く時には「the third-generation cepheems」という単語は使わないように注意しましょう。

ちなみに、CLSI の文書等にも、以下のように記載されています。

3.2.1.3 Cephems (including Cephalosporins) The different cephem antimicrobial agents can have a somewhat different spectrum of activity against gram-positive and gram-negative bacteria. The antimicrobial class, cepheems, includes the classical cephalosporins, as well as the agents in subclasses cephamycin, oxacephem, and carbacephem (see Glossary I). The various cephalosporins are often referred to as “first-”, “second-”, “third-” or “fourth generation” cephalosporins, based on the extent of their activity against the more antibiotic-resistant, gram-negative bacteria. Not all representatives of a specific group or generation necessarily have the same spectrum of activity. Because of these differences in activities, representatives of each group may be selected for routine testing.

(Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard)

Q 2：アウトブレイク時に分離株の PFGE のパターンが異なった場合、「関連性がない」とか「別株」と判定しても良いですか？

A 2：MRSA やリファンピシン耐性結核菌の場合、耐性遺伝子が、染色体上にありますので、PFGE のパターンが異なれば、「別株」とほぼ確実に判定できます。しかし、ESBL 産生大腸菌や VanA 型 VRE、MBL 産生緑膿菌のように、耐性遺伝子が伝達性プラスミドにより媒介されている耐性菌の場合は、PFGE のパターンが異なっても「関連性がない」と判定できない場合があります。それは、耐性遺伝子が、腸内等に存在する別の株に伝達した結果、同じ患者の腸内などに異なる PFGE パターンを示す遺伝的に別系統の ESBL 産生株が出現しそれらが複数共存している場合があるからです。

検査の場合、全てのコロニーを調べているわけではないので、代表的な数コロニーを選択して調べることがおおく、たまたま調べた株が、新たにプラスミドを獲得した「別系統」の株であった可能性もあります。したがって、ESBL 産生株等、薬剤耐性遺伝子が伝達性プラスミドにより媒介されている耐性菌の場合は、PFGE のパターンが異なっても、必ずしも、「関連性が無い」とは断定できません。その場合、日常検査の範囲では難しいでしょうが、研究として、多数のコロニーを選択し薬剤感受性試験を行い、薬剤耐性パターンが類似する株を選んで PFGE 解析を実施すると、プラスミドの解析をしてみると、より詳しい情報が得られるでしょう。

Q 3 : 腸内細菌と腸内細菌科とはどう違うのですか？

A 3 : 「腸内細菌」は、テレビのコマーシャル等でも「善玉の腸内細菌」などとして使われることもあり、その場合、乳酸菌などを意味している場合が多いです。したがって、「腸内細菌」とは、一般的にヒトの腸内（糞便）から分離される細菌を漠然と指していることが多く、大腸菌や肺炎桿菌等に加えて、グラム陽性菌である、腸球菌や乳酸菌、あるいはクロストリジウム属菌なども「腸内細菌」に含まれているようです。一方「腸内細菌科」というのは、グラム陰性桿菌の中で、「family *Enterobacteriaceae*」に相当し、*Escherichia* 属、*Klebsiella* 属、*Serratia* 属、*Enterobacter* 属、*Citrobacter* 属などとともに、病原菌である、*Shigella* 属、*Salmonella* 属、*Yersinia* 属などに属する菌種を指します。したがって、腸内細菌と腸内細菌科で意味される菌種は違います。

Q 4 : ESBL には CMY 型や MBL も入るのですか？

A 4 : ESBL (Extended-Spectrum beta-Lactamase) は、「基質拡張型 β - ラクタマーゼ」とか「基質特異性拡張型 β - ラクタマーゼ」と記述される事が多いです。名称からのみ考えると、セファロスポリン系のみならず、セファマイシン系を分解する CMY- 型 β - ラクタマーゼやカルバペネム系を分解する MBL (メタロ - β - ラクタマーゼ) も「基質特異性が広い」ので、ESBL に加えると誤解して記載している総説等も一部にあります。しかし、ペニシリナーゼ (TEM- 型ペニシリナーゼや SHV- 型ペニシリナーゼ) のアミノ酸配列が一部変化し、これらのペニシリナーゼに安定な、いわゆる「第三世代セファロスポリン」を分解できる能力を獲得した変異型酵素が ESBL であり、当初は、TEM- 由来 ESBL とか SHV- 由来 ESBL と呼ばれていました。さらに、その後、CTX- M - 型 β - ラクタマーゼや OXA- 型 β - ラクタマーゼの一部にも「第三世代セファロスポリン≡オキシミノセファロスポリン」を分解できる酵素が出現し、それらは、ESBL に加えて考えられるようになりました。ESBL は、セリン型 β - ラクタマーゼに属し、阻害剤であるクラブランにより酵素活性が低下するという特徴を示します。したがって、クラブランにより阻害され難い、クラス C 型の CMY- 型などの AmpC 型 β - ラクタマーゼや、クラス B 型に属する MBL は、分解できる β - ラクタム薬の範囲が広いですが、ESBL には加えません。

Q 5 : 「尿から分離された大腸菌の IPM に対する MIC は $16\mu\text{g/ml}$ であり、IPM 耐性株と判定された。」と原稿に書いたら、先生から、「文章が間違っている」と指摘されましたが、どうしてですか？

A 5 : MIC は、最小発育阻止濃度の略で、細菌の発育を阻止する抗菌薬の最小値のことです。つまり、MIC は抗菌薬（この場合は IPM）の濃度のことです。

したがって、「尿から分離された大腸菌に対する IPM の MIC は $16\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、IPM 耐性株と判定された。」が正しい記載です。質問者の方の文章は、「大腸菌の (IPM に対する) MIC」ですので、大腸菌に MIC があることになり正しい記載といえませんが、この点は、初心者の方は良く間違えるので注意しましょう。

Q 6 : CTX-M- 型 ESBL 産生菌で、セフトாகキシム耐性ととも CAZ (モダシン) 耐性を示す株が最近増えているように思いますが、どうしてですか？

A 6 : CTX-M- 型 ESBL 産生株は、文字通り、セフトாகキシム (CTX) に耐性を示します。その他、CTX と構造が類似している、セフトリアキソン (CTRX) や家畜用のセファロスポリンであるセフトオフルやセフキノムにも耐性を示します。たしかに、以前は、多くの CTX-M- 型 ESBL 産生株に対するセフトアジジム (CAZ) の MIC は低く、「感性」の範囲に入る株が一般的でした。しかし、2000 年代の中頃から、CTX と CAZ の双方に「耐性」と判定される株が目立つようになってきました。その背景には、CTX-M-1 のグループの中で CTX-M-15 と型別される CAZ を分解可能な新型の酵素を産生する株の増加があります。また、最近では、CTX-M-15 と類似した CTX-M-55 と型別される酵素を産生する株が出現し増加しつつあります。一方、CTX-M-9 のグループでは CTX-M-27、CTX-M-2 のグループでは CTX-M-31 と型別される CAZ を分解可能な酵素が出現しており、それらの影響で、CTX-M- 型 ESBL 産生菌であっても CAZ に耐性を示す株が増える傾向にあります。なお、CTX-M- 型 ESBL 産生株で CAZ 耐性を示す株が臨床分離された場合は、以上のメカニズム以外に、CAZ を効率よく分解できない CTX-M-2 や CTX-M-3 などの CTX-M- 型 ESBL とともに CAZ を分解可能な SHV-12 など別の ESBL の同時産生株である可能性もあります。

Q 7 : 「アシネトバクターは環境常在菌であり、しかも病原性も弱いので、それほど大騒ぎする必要は無い」という意見もありますが、どうなのでしょう。

A 7 : 確かに、アシネトバクター属菌は、有機物を多く含む湿った土壌などから分離される環境菌の一種です。しかも、これまでに国内の医療環境では、患者さんよりアシネトバクター属菌が分離されることは時々ありましたが、病院内で広がって問題となるようなことは稀でした。しかし、現在、感染制御上で重要視されている菌種は、これらの一般的なアシネトバクター属菌ではなく、特に、アシネトバクター・バウマニと同定される菌種で、しかもその中で、染色体上の複数の遺伝子の解析による型別 [MLST (multilocus sequence typing)] で、sequence type 2 (ST 2) (パスツール研の方法) や clonal complex 92 (CC92) (Bartual らの方法) と判定される株です。この種の株は、環境中に一般的に見られるアシネトバクター属菌と全く異なり、医療環境で伝播拡散しやすい特性を有し、さらに多剤耐性を獲得しているため、難治性の感染症の原因となります。たしかに、現時点では、日常的な細菌検査の中で、多様なアシネトバクター属菌の中からアシネトバクター・バウマニを正確に同定したり、さらに、種々のアシネトバクター・バウマニの臨床分離株の中から ST 2 や CC92 を簡便に識別することは困難です。しかし、もし、自施設で、カルバペネム耐性や多剤耐性傾向を示すアシネトバクター属菌が複数の患者さんから分離された場合は、詳しい解析ができなくても、アシネトバクター・バウマニの ST 2 や CC92 である可能性を想定し、遅滞なく、標準予防策、接触感染予防策の強化をするとともに、菌株の詳しい解析を、近隣の大学附属病院などの検査部や細菌学教室、あるいは、地方衛生研究所を通じて国立感

感染症研究所などに依頼する必要があります。

Q 8 : SMA disk 法で「メタロ - β - ラクタマーゼ陽性」と判定されてもイミペネムの MIC 値が 1 $\mu\text{g/ml}$ で「感性」と判定される株がありますが、どう考えたらよいのでしょうか？

A 8 : 一般的にメタロ - β - ラクタマーゼを産生する株に対しては、イミペネムの MIC 値が、4 $\mu\text{g/ml}$ 以上となり、128 $\mu\text{g/ml}$ 程度に達する場合があります。しかし、最近、SMA 陽性でも IPM に「感性」と判定される株が散見され注目されています。これらの株は、IMP-1 の変種である IMP-6 など産生する株である可能性があります。IMP-6 は IMP-1 と遺伝子の塩基配列が類似しているため、PCR では「IMP-1 陽性」と判定される点が特徴の一つです。お隣の韓国では、IMP-6 を産生する「IPM 感性」で、「MEPM 耐性」と判定される緑膿菌（ST は 235 など）が全国の医療機関で広がり、警戒されています。国内でも今後広がる可能性があり、「IPM 感性」と判定されても、CAZ や MEPM に対し「耐性」と判定される株が分離された場合には、IMP-6 などの産生株である可能性を考慮して対応をする必要があるでしょう。

Q 9 : EDTA は、メタロ - β - ラクタマーゼの阻害剤と言われていますが、SMA による阻害作用とはどちらがうのですか？

A 9 : 阻害剤というのは、一般的に、特定の分子や酵素に直接結合したり作用してその機能を阻害する物質のことです。EDTA（エチレンジアミン 4 酢酸）は、たしかにメタロ - β - ラクタマーゼの活性を減弱させます。しかし、これは、EDTA がメタロ - β - ラクタマーゼに直接作用するのではなく、培地の中から、亜鉛をキレートして除去することで、酵素反応に亜鉛を必要とするメタロ - β - ラクタマーゼの活性を間接的に低下させているだけで、厳密な意味では、阻害剤ではありません。一方、SMA（メルカプト酢酸ナトリウム）などのメルカプト化合物は、金属に結合しやすい（-SH）基を持ち、多くのメタロ - β - ラクタマーゼの活性中心に存在する亜鉛に結合して、酵素活性を減弱させるので、阻害剤と言えます。ただし、他のメタロ酵素も阻害する可能性があり、メタロ - β - ラクタマーゼの特異的阻害剤とは、断定できません。なお、EDTA は、亜鉛のみならず、細菌の生育に不可欠な、他の二価の金属イオンも同様に吸着除去する能力を持つため、EDTA の存在下では、細菌の生育に不可欠な各種の金属が培地中で欠乏して菌の生育が非特異的に阻害される現象が見られます。たとえば、アシネトバクターや大腸菌などでは、500mM の EDTA- 2 Na を 20 μl 添加した disk の周囲に、判定の邪魔になる程度の発育阻止帯が出現する株もあり、「メタロ - β - ラクタマーゼ陽性」と偽陽性判定の原因となったり、判定不能となったりすることがあるので、注意が必要です。

Q 10 : セフボドキシムやセフォペラゾンに耐性を示し、クラブラン酸の存在下でセフボドキシムの MIC が低下する *Klebsiella oxytoca* が分離されましたが、これは ESBL 産生株でしょうか？

A 10 : *Klebsiella oxytoca* は全ての株が染色体上に K1 型（KOXY 型、RbiA などとも呼ばれている）の β - ラクタマーゼの遺伝子を持つため、多くの株はセフボドキシムやセフォペラゾンなどに生来耐性を示します。また、K1 型 β - ラクタマーゼは、ESBL と同じクラス A 型の β - ラクタマーゼに属し、クラブラン酸によって阻害されます。したがって、ESBL のスクリーニング試験では、*K. oxytoca* はしばしば「ESBL 産生株疑い」と判定されますが、その多くは K1 型 β -

ラクタマーゼ過剰産生株であり、ESBL 産生株ではありません。しかし、一部には、プラスミド媒介性の SHV- 由来 ESBL や CTX-M 型 ESBL を産生する株があるので、接合伝達実験を行い、セフトキシム耐性が伝達するか否かを調べることで鑑別に役立ちます。

Q 11：2013 年 3 月に CDC が「CRE」に対し警告を発しましたが、どうしてですか？

A 11：「CRE」は、切り札的な抗菌薬とされているカルバペネム系薬に耐性を獲得した腸内細菌科の菌種（Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae*）の総称の略名で、菌種の多くは肺炎桿菌です。米国では 2000 年以降 KPC 型のカルバペネマーゼを産生する CRE が全国的に広がり、ニューヨークやその近傍など特定の地域では、分離率が特に高くなっています。CRE はカルバペネム耐性に加え、フルオロキノロン系やアミノ配糖体系にも多剤耐性を示すことが多く、感染症を引き起すと治療が困難になり、血流感染症では 5 割程度が死亡するため、CDC は、CRE をこれ以上医療現場で蔓延させないために警告を発しました。なお、欧州では KPC 型に加え、NDM 型や VIM 型、OXA-48 と呼ばれるカルバペネマーゼを産生する多様な CRE が急速に拡散しつつあります。

Q 12：最近、OXA-48 という新しいカルバペネマーゼが国内で話題になっていますが、これまでに知られていた OXA-51-like や OXA-23-like 等とは、どう違うのですか？

A 12：OXA-48 は、OXA-51-like や OXA-23-like 等と同じ仲間の新型カルバペネマーゼです。しかし、アミノ酸配列を比較すると OXA-51-like や OXA-23-like などとはかなり違いが見られ、遺伝的にもかなり離れており、OXA-51-like や OXA-23-like の遺伝子を検出するための PCR では検出できません。また、OXA-51-like や OXA-23-like 等が、これまで、*Acinetobacter baumannii* という菌種で問題となってきたのに対し、OXA-48 を産生する菌種としては、肺炎桿菌や大腸菌などのヒトの腸内に定着しやすい腸内細菌科の菌種が多いという違いがあります。また、OXA-48 産生肺炎桿菌は、欧州特にベルギーなどで急速に広がっており、フランスやスペイン等で、しばしば院内感染の原因となり、血流感染症を引き起すと死亡率が高くなるため、その広がりが強く警戒されています。

Q 13：肺炎桿菌や大腸菌、エンテロバクター属菌などの菌種で、イミペネムなどの MIC が 4-16 $\mu\text{g/ml}$ と判定される株がありますが、SMA 法は陰性で、modified ホッジテスト（MHT）でも、カルバペネマーゼの産生も陰性という結果が得られました。どう考えたら良いでしょうか？

A 13：たしかに、最近、NDM-1 や IMP-1 などのメタロ- β -ラクタマーゼや KPC 型、OXA-48 などのカルバペネマーゼを産生しないにもかかわらず、「カルバペネム耐性」と判定される菌株が散見されます。これらの多くは、染色体性の AmpC やプラスミド媒介性のクラス C 型の β -ラクタマーゼ（セファロスポリナーゼ）を過剰産生し、さらに、特定の外膜タンパクが欠失した株であることが報告されています。特に、CMY-2 や ACT 型、DHA 型などのクラス C 型 β -ラクタマーゼの一部には、ごく弱くですがカルバペネムを分解する活性を持っているものがあり、それらの過剰産生と外膜の変化とが重なることでカルバペネムに対する耐性度が上昇すると報告されています。一方、南アフリカなどでは、GES 型の β -ラクタマーゼを産生するカルバペネム耐性株も報告されています。

Q 14：最近、ペニシリンに低感受性を示す B 群連鎖球菌（PRGBS）が話題になっていますが、臨床的な危険度についてはどのように考えたら良いのでしょうか？

A 14：たしかに、最近、PRGBS がヒト由来の臨床検体よりしばしば分離され、一部では、院内で広がったことを示唆する研究報告も出ています。しかし、PRGBS の多くは、現時点では喀痰や褥瘡の膿などの体表面由来検体からの分離株であり、血液から分離された株は極めて稀です。さらに、これまでに妊婦さんの検査や新生児の髄膜炎から分離された GBS の中からは PRGBS は検出されていません。したがって、PRGBS は、現時点では、新生児の敗血症や髄膜炎などの侵襲性の感染症の起原菌となる危険性は低いと考えられています。しかし、一般的な GBS であっても高齢者の肺炎の原因になったり、小児の血液や髄液から分離されることはあり、将来的に病原性がより強くなった PRGBS が出現する可能性は残るので、その動向を注意深く監視して行く必要があると思われます。

Q 15：2 週間以内に 5 名の患者の血液培養でカルバペネム耐性セラチアが分離されました。同じ時期に実施したネブライザーの培養検査でもカルバペネム耐性セラチアが分離され、血液由来の株と PFGE のパターンが一致しました。そこで、ネブライザーから飛沫となって飛散したセラチアを吸い込むことで、気道や肺から血液中に菌が侵入したと考えて良いのでしょうか？

A 15：細菌に対しほぼ正常な感染防御能力を有している患者さんでは、仮に少量のセラチアを口や鼻から吸い込んでも、それが原因で肺炎になったり血液培養が陽性になることはまずありません。セラチアや肺炎桿菌、緑膿菌、アシネトバクターなどの菌種は、皮膚や呼吸器粘膜などの上皮細胞に侵入する能力は殆ど無いからです。また、仮に少量、組織や血流中に侵入しても、殺菌作用を有する好中球等に貪食されて処理されます。したがって、セラチアなどの菌種が複数の患者さんの血液培養で同時期に分離されたような場合には、まず、点滴や輸液路などを通じて菌が血流中に侵入した可能性を疑って、調査や対策を講じる必要があります。なお、ネブライザーからセラチアなどの細菌が分離される場合は、医療器具の衛生管理に問題があったり、それらの菌によって、病室や病棟がかなり高度に汚染されていることを示唆しますので、汚物処理室や水回りなどのどこかに、セラチアなどが住みついているかなどを調べ、必要な衛生管理を徹底していただく必要があります。

Q 16：最近、外来患者からも ESBL 産生菌がしばしば分離されるようになりました。そこで、「ESBL 産生菌については、院内で感染制御の対象としても意味が無い」などという意見もありますが、どう考えたら良いのでしょうか？

A 16：たしかに最近、市中で健康な生活を送っている人からも数％の割合で ESBL 産生菌が分離される事態になっています。したがって、医療環境で ESBL 産生菌が広がるリスクは以前より高まったことは事実です。重要なことは、「一般市民も一定の頻度で ESBL 産生菌を保菌しているので、病院内で対策を立てても無意味だ。」というふうに短絡的に考えるのではなく、ESBL 産生菌の保菌者が入院して来た時には、これまでと同様に ESBL 産生菌を保菌していない他の入院患者に ESBL 産生菌が伝播しないように、必要な伝播防止策を実施することです。なお、ESBL 産生菌は、ESBL の遺伝子以外にも、各種の薬剤耐性遺伝子を同時に持っている多剤耐性株であることも多く、そのような菌を病院環境で対策も講じずに増やすようなことは現状では避

けるべきであると考えられます。そのためにも、新規入院患者や他院からの転院患者については、入院時点で ESBL 産生菌等の特定の耐性菌を保菌の有無について検査し、陽性者に対しては、伝播防止のための適切な予防策を講じる必要があると思われます。

Q 17 : CAZ の MIC が 32 μ g/ml と判定される *Klebsiella pneumoniae* が分離されました。クラブラン酸が存在すると、CAZ の MIC が 1 μ g/ml に低下したので、PCR を実施したところ、SHV 型「陽性」と判定されました。そこで、この株は SHV-12 などの ESBL を産生していると判定して良いのでしょうか？

A 17 : SHV-12 などの産生株である可能性はあります。しかし、*K. pneumoniae* の場合、ESBL を産生していなくても、染色体性のペニシリナーゼの過剰産生と膜の変化とにより CAZ の MIC が 32 μ g/ml 程度となる株があることは、以前から知られています (Rice LB, *et al.*, 2000, Antimicrob Agents Chemother 44 : 362-7.)。また、*K. pneumoniae* の染色体性のペニシリナーゼ (LEN-1) の遺伝子は SHV-derived ESBL の遺伝子と極めて類似しているので、PCR に用いたプライマーのシーケンスによっては、「陽性」と誤判定される場合があり、注意が必要です。

Q 18 : メタロ - β - ラクタマーゼ (MBL) 産生株に対してはアズトレオナム (AZT) の MIC 値が低く、「S」と判定されることが多いですが、AZT はメタロ - β - ラクタマーゼ産生株による感染症に有効性が期待できると考えて良いのでしょうか？

A 18 : たしかに、IMP 型であれ VIM 型であれ MBL を単独で産生する株に対する AZT の MIC は、「S」の領域となる場合が多いです。PIPC の MIC も低い傾向がみられます。また、MBL 産生菌による感染症に対し AZT が有効であったという 1 例報告は幾つかあります。しかし、症例対照研究等で AZT の有効性が検証された文献はいまのところありません。また、MBL 産生菌は、染色体性の AmpC 型セファロsporinase やプラスミド媒介性の各種の β - ラクタマーゼの遺伝子を保有している場合が多く、臨床分離された当初はそれらの遺伝子が十分に発現していない場合もあり、MBL の影響が前面に出た感受性プロファイルを示しますが、 β - ラクタム薬に一定期間さらされることで、それらの遺伝子が高発現するようになり AZT に対する耐性度が上昇した株がやがて出現してくる可能性も念頭に置く必要があるでしょう。

Q 19 : 多剤耐性緑膿菌や多剤耐性アシネトバクターでは、汚物室や尿量測定装置、水回りなどの湿潤環境の衛生管理が重要視されています。しかし、MRSA では、その点はあまり強調されていませんがどうしてでしょうか？

A 19 : 緑膿菌やアシネトバクター属菌は、元来は「環境菌」であり、植物や土壌などからも検出される菌種です。また、水分と若干の有機物があれば、室温程度でも持続的に増殖が可能な菌種です。したがって、有機物で汚染されやすい水回りなどの環境に定着しやすい性質を有しています。一方、黄色ブドウ球菌は、皮脂や角化上皮の分解成分などに富む動物の皮膚等の富栄養環境を好む皮膚常在菌であり、貧栄養環境である植物の表面や土壌などから分離されることはまずありません。したがって、黄色ブドウ球菌は、汚物室等で自発的に増殖する能力は、緑膿菌やアシネトバクター属菌より劣っており、その点で汚物室や水回り等が MRSA の感染源になるリスクは緑膿菌等に比べ低いと考えられています。

Q 20：我が国で1997年頃にバンコマイシンのMICが8 µg/mlとなるバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌の出現やその発生母地とされるバンコマイシンヘテロ耐性黄色ブドウ球菌(hVRSA)が大学病院等で9%程度存在すると報告され、海外も含め大きな関心事となりましたが、それらのその後の状況はどのようなになっているのでしょうか？

A 20：客観的事実として、バンコマイシンのMICが8 µg/mlと判定されるようなバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌は、国内ではこれまでのところ臨床分離株では確認されていません。つまり、国内で臨床分離される黄色ブドウ球菌に対するバンコマイシンのMIC値は2 µg/ml以下が大半で、2～4 µg/mlとなる株はあっても極めて稀です。微量液体希釈法でバンコマイシンのMIC値が2 µg/mlと判定された株では、Etestでは、MICが1.5 µg/mlやそれ以下と判定されることが多いようです。しかし、検査装置によっては、MIC値が高目に出る機種があることは事実で、検査装置の精度管理の向上が重要です。繰り返しになりますが、hVRSAの報告後10数年が経過しますが、国内では、未だにバンコマイシンのMICが8 µg/mlというような黄色ブドウ球菌は確認されていません。ただし、黄色ブドウ球菌やMRSAをMICよりやや低い濃度のバンコマイシンを含む培地で繰り返し継代培養することで、バンコマイシンのMICが100 µg/ml程度となる「耐性株」を人為的に作出することは可能です(Sieradzki K, Tomasz A. 1996, FEMS Microbiol Lett. 142: 161-6.)。一方、海外ではvanA遺伝子を獲得したMRSAが何例か報告されていますが、そのような株の院内伝播やアウトブレイクの発生は、幸いなことに、これまでのところ海外でも報告されていません。

Q 21：イミペネムに「I」と判定された肺炎桿菌について、SMAテストを実施したところ「陰性」でしたが、modified Hodge test (MHT) では、「陽性」となりました。MBL以外のカルバペネマーゼを産生する株と判定して良いのでしょうか？

A 21：MHTは、カルバペネムを分解するMBLsやKPC、OXA-48などの酵素を産生する株のスクリーニング法としては簡便な方法で、CDCも推奨しています。しかし、特異度や感度に問題があり、CTX-M型ESBL産生株でも「陽性」と誤判定される場合も指摘されている(Carvalhoes CG, et al., J Antimicrob Chemother. 2010, 65: 249-51., Wang P, et al., PLoS One. 2011, 6: e26356.)ので、MHTの結果のみでカルバペネマーゼ産生株と判定するのは危険です。

Q 22：Acinetobacter baumanniiのMLST解析で、国際的に広がっている流行株(International clone II)をST92やCC92と記載する一方で、ST 2と記載している文献がありますがどういうことでしょうか？

A 22：A. baumanniiのMLST解析の方法については、現在、Bartualの方法(Bartual SG, et al., J Clin Microbiol. 2005, 43: 4382-90.)と、Pasteur研究所のグループが推奨する方法の二つが主に用いられています。前者の方法では、International clone IIはST92やCC92と分類され、後者の方法では、ST 2と分類されるということです。両者は、解析の対象としている遺伝子が若干異なり、Bartualの方法でCC92と判定される株はPasteurの方法ではST 2に含まれることが多いです。

Q 23：メロペネムとアミカシンに耐性を獲得し、シプロフロキサシンの MIC は「I」の範囲と判定された二系統耐性のアシネトバクター属菌が、14日間に 8 名の患者より分離されました。また保菌と判断されたので、感染症法の届け出基準には合致せず、保健所には報告しなくても良いと考えますが、それでかまいませんか？

A 23：感染症法では、カルバペネム系、フルオロキノロン系、およびアミカシンに対し一定レベル以上の耐性度を示す株による感染症を発症した患者さんについて、届け出が求められています。複数の症例から、届け出の基準を満たした耐性度を獲得したアシネトバクター属菌が分離されても、保菌者については報告義務が無いとされています。また、二系統耐性のアシネトバクター属菌による感染症患者についても、感染症法では、届け出は求められていません。しかし、一定期間内に複数の患者さんから二系統耐性のアシネトバクター属菌が検出され、この耐性菌による院内感染の発生が疑われるものの、対策の効果が見られないなどの場合には、感染症法ではなく、医政局指導課の課長通知（平成 23 年 6 月 17 日：医政指発 0617 第 1 号）に従い、保健所に届け出て頂いたほうが良いでしょう。（医政指発 0617 第 1 号：139 頁がその根拠）

Q 24：入院後、48時間以内の検査で、VRE が検出されました。そこで、「持ち込み」と判断して対応していますが、それでよろしいですか？

A 24：医療関連感染の疫学調査や疫学研究では、「入院 48 時間以降に検出された VRE は院内獲得とする」などと定義して調査や解析が行われることが多いです。その逆に、入院後、一定時間内に特定の耐性菌が分離された場合は、「持ち込み」と見なして、対応が行われる場合もあります。しかし、48 時間以内であっても、入院後に病院内で獲得した耐性菌である可能性が否定できない場合もあり、細菌学的な視点から分離菌株の生物学的、遺伝学的特徴を詳しく解析し、48 時間以内の分離株が病院内で既に分離されている菌株と、細菌学的、遺伝学的に同等であれば、「院内で獲得」と判定し、感染源や感染ルートの調査などを含め、感染制御の対象として頂く必要があるでしょう。

Q 25：最近、海外で CRE（carbapenem-resistant Enterobacteriaceae）が警戒されています。私の病院でも IPM の MIC が 2～16μg 程度となる肺炎桿菌や Enterobacter 属菌が分離されましたが、既知の MBL や KPC、OXA-48 などのカルバペネマーゼの遺伝子を検出する PCR では「陰性」、modified Hodge test でも「陰性」となってしまいます。これらの株はどのように考えたら良いのでしょうか？

A 25：腸内細菌科の菌種で、IMP や VIM, NDM などの MBL、KPC、OXA-48 などのカルバペネマーゼを産生しないにもかかわらず、カルバペネムに低感受性や耐性を示す株が散見されるのは事実です。SMB-1 や TMB- 2 などの新規のカルバペネマーゼを産生する株の可能性もありますが、多くは以下のような株と考えられます。

1. *Enterobacter* 属や *Citrobacter* 属など染色体性の誘導型 AmpC を産生する菌種では、AmpC の過剰産生とともに、特定の外膜タンパクの減少や欠失により、上記の形質を示します。
2. *Klebsiella* 属や大腸菌など、染色体性の AmpC を産生しない菌種では、plasmid 媒介性の DHA 型や CMY 型のセファロスポリナーゼ（セファマイシン系も分解可能）の過剰産生とともに特定の外膜タンパクの減少や欠失により、上記の形質を示します。

なお、大腸菌の場合、通常では発現しない染色体性の AmpC が、プロモーター領域の変異や IS

などの挿入により過剰産生されるようになった株も稀に存在するようです。

Q 26：MBL や KPC などの特定のカルバペネマーゼを産生しないのですが、IPM の MIC が 16 μ g / ml と判定される *Enterobacter cloacae* が複数の患者から分離されました。CDC などが注意を呼びかけている CRE には該当しないので、対策を講じなくても良いのでしょうか？

A 26：カルバペネマーゼを産生しないにもかかわらずカルバペネムに耐性を示す腸内細菌科の菌株については、DHA 型や CMY 型などのプラスミド媒介性のセファロスポリナーゼの過剰産生株も含まれており、感染制御の観点からはそのような株が医療環境で広がるのは避ける必要があるため、ESBL 産生菌などと同じように接触予防策などを実施する必要があると考えられます。

Q 27：ホスホマイシンに対する薬剤感受性を試験する場合の留意点を教えてください。

A 27：ホスホマイシンは、糖を取り込むトランスポーター（GlpT, UhpT）により細胞内に取り込まれます。このトランスポーターの一つ UhpT は、グルコース -6- リン酸（G6P）の存在下で誘導産生されます。したがって、G6P を添加した場合としない場合ではホスホマイシンの MIC が大きく異なるので、通常は G6P を添加した環境で MIC の測定を実施します。参考文献：<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20404116>

Q 28：最近、ArmA や RmtB などの 16S rRNA メチレースを産生する菌種や菌株の増加が警戒されています。そのような株を日常検査で識別する方法について教えてください。

A 28：通常、アミノ配糖体への耐性はアミノ配糖体のアセチル化、リン酸化、アデニル化による不活化によるものです。それらとは異なる 16S rRNA メチレースを産生する株を検出する為には、日常検査で実施しているアミノ配糖体の感受性試験で、たとえばアミカシンやゲンタマイシンなどが全て「R」と判定される株を選びます。次に、保険適応が無いので通常は薬剤感受性試験を実施しませんが、アルベカシンに対する薬剤感受性を調べます。KB disk を用いた試験で発育阻止円が全く出現しない場合には、16S rRNA メチレース産生株の可能性が高くなります。

Q 29：最近、国内で OXA-48を産生する肺炎桿菌や大腸菌が分離されたということで話題になっていました。どうして、OXA-48産生株はそれほど問題なのでしょう？

A 29：OXA-48 産生株は 2001 年にトルコで分離された株が最初で、その後急速に欧州などに広がっています。OXA-48 産生株は CRE の一つですが以下の点で臨床的に警戒されています。

1. OXA-48産生株による血流感染症を発症すると治療ができず、半数程度が死亡すると報告されている。
2. OXA-48産生株はカルバペネム以外にもフルオロキノロン系やアミノ配糖体系にも広範囲に耐性を示す傾向がある。
3. OXA-48産生株による感染症にはコリスチン（国内未承認）など限られた抗菌薬しか有効性が期待できない場合が多い。
4. OXA-48産生株は院内感染症のみならず市中感染症である尿路感染症や肺炎などの原因となる。
5. OXA-48産生株は日常検査では ESBL 産生株などと識別が難しい場合が多く、発見が遅れる危険性がある。

Q 30 : MEPM 耐性 (MIC, 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の *Proteus vulgaris* が分離されました。SMA 試験陽性で、PCR で IMP 型と判明しました。IPM の MIC が 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ なので、おそらく IMP-6 のようなイミペネムの分解活性が弱い MBL を産生する株と思います。これについて、ISM RK を参考に ISMRP と命名することも考えていますがどうでしょうか？

A 30 : 「ISM R」 とは 「imipenem-susceptible but meropenem-resistant」 の略であり、そのような形質を示す *Klebsiella pneumoniae* が最初に 「ISM RK : imipenem-susceptible but meropenem-resistant *K. pneumoniae*」 と命名されました。この名称は「イミペネム感性／メロペネム耐性」という、MBL 産生菌としてはパラドキシカルな形質を示すには便利なネーミングです。しかし、この形質の原因は IPM の分解活性が弱い IMP-6 という IMP-1 型 MBL の変種 (variant) を産生するためです。この IPM-6 の遺伝子はプラスミド媒介性であることも多く、*Klebsiella* 属以外にも近縁の *Escherichia* 属や *Proteus* 属などにも伝達しつつあります。そのような株を 「ISM RE」 や 「ISM RP」 と命名した場合、「imipenem-susceptible but meropenem-resistant」 の *Enterobacter* 属や *Providencia* 属などとそれぞれ紛らわしくなり、混乱が予想されます。そこで、IMP-6 の産生を確認した上で 「IMP-6 を産生する *Proteus vulgaris*」 と記載し、「ISM RP」という略名は用いない方が良いでしょう。ちなみに、韓国では IMP-6 を産生する緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) が蔓延しつつあり、それらも 「ISM RP」と表記されると混乱がさらに大きくなってしまう恐れがあります。

Q 31 : VRE の届出基準が改定され、検査方法から van 遺伝子の検出が削除されました。腸球菌が血液から分離され、PCR により van 遺伝子が検出されたが感受性試験を実施していない場合、届出は不要ですか？ また、vanB 遺伝子が検出されたがバンコマイシンの MIC 値が 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の場合は届出は不要ですか？ さらに、届け出が不要な場合、院内感染対策を講じる必要はないと考えてよいのでしょうか？

A 31 : まず、PCR 解析の結果で van 遺伝子を保有した腸球菌 (暫定的な VRE) と判定される株による感染症と診断された場合は、VRE の確認及び治療薬剤選択のため薬剤感受性試験の実施をお勧めします。その結果、感染症法の届け出基準 (バンコマイシン MIC 値 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上) に合致すれば、今回は血液培養分離株なので 「VRE 感染症」として感染症法に基づき届け出をして頂く必要があります。(薬剤感受性試験の実施は強制や義務ではないので、それを実施するかしないかは医療機関の判断です。しかし、仮に実施しないと 「感性」「耐性」の判定ができず、感染症法に基づく届け出はできないことになります。届け出なくても法令違反には問われませんが、回答者としては薬剤感受性試験の実施を強くお勧めします。)

薬剤感受性試験の結果、バンコマイシンの MIC 値が 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満であれば、届け出の必要はありません。

「感染症法に基づく届け出基準に該当するかどうか」と「院内感染対策が必要かどうか」は全く別ですので、仮に届け出をしない場合であっても、「保菌」と考えられる場合も含め、過去の「厚生労働省通知」などを根拠に医療機関内での VRE の院内伝播を防ぐため、実効ある必要な対策を実施して頂く必要があります。以上は回答者の私見ですので、届け出に関してご不明の点があれば、感染症法の所管課である厚生労働省結核感染症課にお尋ね下さい。参考資料 (厚生労働省通知 : H 9 年 VRE 通知、H 10 年 VRE 通知、H 11 年 VRE 通知)

Q 32 : 当院は感染症法に基づいて指定された定点病院です。最近、カルバペネム耐性の緑膿菌が複数の患者さんから検出され、院内感染の発生が疑われます。分離株の中には、ニューキノロン耐性も同時に獲得した二系統耐性株も散見され、その株による肺炎患者も実際に出ています。しかし、感染症法で定められている「届け出の基準」を満たしていないので、届け出は必要ないと理解していますが、それで良いですか？しかし、「届け出が不要な耐性菌なので感染制御の対象菌種にする必要性が無い」と院内ではあまり重要視されていません。本当にそれで良いのでしょうか？

A 32 : 感染症法は、特定の病原体（耐性菌を含む）による感染症患者の発生動向を監視する為に報告を求めています。院内感染対策や感染制御の向上を目指した法律ではありません。したがって、「報告基準」を満たさない病原体による感染症例については、アウトブレイクが発生した場合であっても報告は求められていません。しかし、感染制御、院内感染対策の観点からは、特殊な耐性菌による院内感染の発生が疑われた場合には、医政局の課長通知にあるように、必要な感染拡大防止策、伝播防止策を講じて頂く必要があります。その内容については、Q 23 と共通した部分もありますので、そちらをご参考にして下さい。

Q 33 : MRSA と PRSP について教えてください。MRSA と PRSP のペニシリン耐性機構はともに PBP の変異によると理解しています。MRSA は、メチシリン以外の全ての β - ラクタム薬も「耐性 : R」に変換して報告するのに対して、PRSP の場合にはそのような変換は通常行いません。これはどのような理由によるのでしょうか。

A 33 : MRSA が獲得している PBP2' は、メチシリンとの親和性が低く、阻害されないため「R」と判定されます。しかし、その他の多くの β - ラクタム薬（セフェム系薬を含む）の MIC 値が通常の薬剤感受性試験で低くても、これらの抗菌薬の PBP2' に対する親和性もやや低下しており、PBP2' を阻害し難いと考えられています。たしかに、*in vitro* の薬剤感受性試験の結果では、MIC が「S」や「I」の範囲と判定される場合も多くみられます。しかし、そのような株による感染症例では、多くの β - ラクタム薬で実際に有効性が有意に確認できなかったということで、「S」や「I」の場合も「R」に変換することが推奨されています。一方、PRSP については、獲得された変異型 PBP に対しては、ペニシリンの親和性が低下し阻害活性も低下し、実際に、抗菌活性も減弱しており「R」と判定されます。しかし、多くのセフェム系薬やカルバペネム系薬については、親和性が残っており、MIC が低い（「S」の範囲にある）場合などでは、実際の感染症例の治療成績からは、それらの抗菌薬による治療効果がみられたという事実から、機械的、一律的な「R」への変換は推奨されていません。



群馬大学大学院医学系研究科附属薬剤耐性菌実験施設

Laboratory of Bacterial Drug Resistance, Gunma University Graduate School of Medicine

[Top page](#) [Contact us](#)

[施設沿革](#)

[業務内容](#)

[研究](#)

[保存菌株について](#)

[菌株分譲について](#)

[スタッフ](#)

[薬剤耐性菌研究会](#)

1978年に設立された本施設は本邦で唯一の薬剤耐性菌に関する専門的研究機関です。
細菌が薬剤に対して耐性を獲得する仕組みを遺伝学的、分子生物学的に明らかにするとともに
薬剤耐性菌の分離状況の調査や菌株の保存と供給を行っています。
また、薬剤耐性菌研究会の事務局として活動しています。



Laboratory of Bacterial Drug Resistance

News & Topics

- 2013.4.5 [第2回 薬剤耐性菌制御のための教育セミナー](#)がICD協議会の教育講演として認定されました (ICD認定更新点数 2点)
- 2013.2.20 [第2回 薬剤耐性菌制御のための教育セミナー](#)のページを更新しました。
- 2013.1.15 [第2回 薬剤耐性菌制御のための教育セミナー](#)のページをアップしました。
- 2012.11.5 [耐性菌による院内感染アウトブレイク事例](#)のページに藤田保健衛生大病院における院内感染対策事例の記事(URL)をアップしました。。
- 2012.8.10 第1回 薬剤耐性菌制御のための教育セミナーが開催されました。
多数のご参加ありがとうございました。



カップ法により生じた阻止円内に現れた耐性菌。用いる薬剤により出現頻度が異なる。
(臨床分離緑膿菌を用いた。)

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

Copyright © Laboratory of Bacterial Drug Resistance, Gunma University Graduate School of Medicine. All rights reserved.

<http://yakutai.dept.med.gunma-u.ac.jp/index.html>