平成28年度　群馬大学　文部科学省特別プロジェクト事業

「多剤薬剤耐性菌制御のための薬剤耐性菌研究者育成と細菌学的専門教育」

第5回
薬剤耐性菌制御のための教育セミナー

資　料　集

日時：平成28年8月5日㈮　13時〜16時

場所：国立感染症研究所　戸山庁舎 2階　共用第一会議室

（東京都新宿区戸山1-23-1）

事務局：群馬大学大学院医学系研究科細菌学・同研究科附属薬剤耐性菌実験施設

プログラム

司会進行　群馬大学大学院医学系研究科細菌学・同附属薬剤耐性菌実験施設　富 田 治 芳

ご　挨　拶

群馬大学大学院医学系研究科　細菌学　教授
同附属薬剤耐性菌実験施設　施設長　富 田 治 芳

1 日本における薬剤耐性菌の現状

国立感染症研究所　細菌第二部　部長　柴 山 恵 吾

2 耐性菌時代の院内感染制御
―感染対策の地域連携支援システム（RICSS）開発とその先にあるもの―

東海大学医学部基礎医学系　生体防御学　教授　藤 本 修 平

3 世界における*mcr-1*陽性菌の現状と今後の留意点

名古屋大学大学院医学系研究科　分子病原細菌学／耐性菌制御学分野　教授　荒 川 宜 親

4 エビデンスに基づいた薬剤耐性菌対策とその実例

名古屋大学大学院医学系研究科　臨床感染統御学　教授　八 木 哲 也

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・同附属薬剤耐性菌実験施設）

日本における薬剤耐性菌の現状……………………………………………………………………… 1
　　柴　山　恵　吾
　　　（国立感染症研究所 細菌第二部）

米国における多剤耐性菌の現状と感染症治療の実際……………………………………………44
　　土　井　洋　平
　　　（ピッツバーグ大学医学部感染症内科）

グラム陰性菌の薬剤耐性………………………………………………………………………………54
　　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）

多剤耐性緑膿菌（MDRP）と多剤耐性アシネトバクター（MDRA）の現状と分子疫学…………67
　　切　替　照　雄
　　　（国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部）

見えない新たな脅威：CRE（Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*）………………………77
　　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）

世界における *mcr-1* 陽性菌の現状と今後の留意点 ……………………………………………88
　　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）

性感染症起因菌の薬剤耐性……………………………………………………………………… 102
　　大　西　　　真
　　　（国立感染症研究所 細菌第一部）

バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）……………………………………………………………… 108
　　富　田　治　芳[1,2]、谷　本　弘　一[2]、久留島　　潤[1]、千　葉　菜穂子[1]、野　村　隆　浩[1]
　　　（[1] 群馬大学大学院医学系研究科 細菌学　[2] 附属薬剤耐性菌実験施設）

Clostridium difficile 感染症について　…………………………………………………… 122
加　藤　は　る
（国立感染症研究所 細菌第二部）

多剤耐性結核の分子疫学解析と国際現状……………………………………………………… 128
松　本　智　成
（大阪府結核予防会大阪病院 診療検査部）

家畜と伴侶動物における薬剤耐性菌………………………………………………………… 134
田　村　　　豊
（酪農学園大学 獣医学群食品衛生学）

臨床検査としての薬剤感受性試験の現状と問題点
特にグラム陽性菌を中心にして…………………………………………………………… 145
奥　住　捷　子
（獨協医科大学病院 感染制御センター）

薬剤耐性菌検査の現状と微生物検査室の役割……………………………………………… 151
長　沢　光　章
（東北大学病院診療技術部）

CRE 検出方法の実際　………………………………………………………………………… 158
長　野　則　之
（船橋市立医療センター 微生物検査室）

院内感染症制御のための監視システム……………………………………………………… 168
藤　本　修　平
（東海大学医学部基礎医学系生体防御学）

耐性菌時代の院内感染制御…………………………………………………………………… 185
―感染対策の地域連携支援システム（RICSS）開発とその先にあるもの―
藤　本　修　平
（東海大学医学部基礎医学系生体防御学）

エビデンスに基づいた薬剤耐性菌対策とその実例………………………………………… 196
八　木　哲　也
（名古屋大学大学院医学系研究科臨床感染統御学）

耐性菌Q＆A…………………………………………………………………………………… 207

ご　挨　拶

群馬大学大学院医学系研究科細菌学
同附属薬剤耐性菌実験施設　**富　田　治　芳**

第５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る５年間の事業です。今回は本事業の最終年度として最後の教育セミナーとなりますが、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、今後の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。

なお、本資料集は今回の第５回教育セミナーを含め、過去の各教育セミナーで講師としてご協力いただいた方々からの講演内容に沿ったご寄稿文（総説）を一つにまとめたものです。ご多用のところ講師としてご協力を頂戴いたしました先生方にこの場をお借りしまして御礼申し上げます。

本資料集内容と耐性菌Ｑ＆Ａはそれぞれ本プロジェクト事業ホームページ「http://yakutai.dept.med.gunma-u.ac.jp/project/index.html」、薬剤耐性菌研究会ホームページ「http://yakutai.dept.med.gunma-u.ac.jp/society/index.html」から閲覧が可能となっておりますのでご活用ください。また同ホームページ内にあります「国内外の耐性菌情報リンク」も、今後の耐性菌に関する情報のupdate にぜひご利用ください。

この資料集ならびに群馬大学附属薬剤耐性菌実験施設（耐性菌研究会事務局）が中心となって発信して行きます様々な耐性菌情報が、これからも耐性菌の理解とその制御に役立つこと、さらには世界的に深刻な問題となっている感染症や耐性菌について関心を持ち、それらを専門とする医学研究者、医療関係者が少しでも増えることを祈念しております。

日本における薬剤耐性菌の現状

国立感染症研究所　細菌第二部

柴　山　恵　吾

はじめに

抗菌薬の開発、使用に伴い、様々な薬剤耐性菌が次々と出現し、拡散している。菌種や薬剤によっては、医療現場全体で分離される株の耐性菌の割合が数年で大きく増加しているものも有る。

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、国内の医療機関およそ1,800機関に参加頂き、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。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。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。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が施されているところだが、JANIS の還元情報は、さらに全国データと自施設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地域医療計画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。JANIS では、データの解析は国立感染症研究所細菌第二部が担当している。ここでは、JANIS の2014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。同時に、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。また、近年特に増加がみられて注意が必要な耐性菌や、外国の状況についても合わせて紹介する。

公開情報 2014年1月～12月 年報(全集計対象医療機関)

院内感染対策サーベイランス 検査部門 【CLSI 2007版】

【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*
   - *Enterobacter cloacae*
   - *Enterobacter aerogenes*
   - *Citrobacter freundii*
   - *Citrobacter koseri*

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： 2015年06月10日
公開情報掲載日： 2015年10月26日

Japan Nosocomial Infections Surveillance

Proteus mirabilis
Proteus vulgaris
Serratia marcescens
Pseudomonas aeruginosa
Acinetobacter spp.
Haemophilus influenzae
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

2014年年報（2014年1月～12月）の集計対象医療機関数は、897であり、前年より152増加した。これは国内8,540医療機関の10.5%を占めていた。

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5,137,630検体のうち、菌が分離されたものは2,130,652検体（陽性検体の割合：41.5%）、分離菌数は3,915,838株であった。

検査材料の内訳は、血液検体が1,562,028検体（30.4%）と最も多く、次いで呼吸器系検体1,488,882検体（29.0%）、尿検体621,446検体（12.1%）、便検体401,659検体（7.8%）、髄液検体63,505検体（1.2%）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1,000,110検体（19.5%）であった。

検査材料別の陽性検体の割合は、呼吸器検体が63.3%で最も高く、次いで尿検体52.4%、便検体49.3%、血液検体12.8%、髄液検体5.1%の順であった。また、その他の検体では46.1%であった。

3. 検査材料別分離菌数割合

血液検体からは226,460株が分離された。分離菌のうち上位3菌種は、*E. coli* 34,081株（15.0.%）、*S. aureus* 30,989株（13.7%）、*S. epidermidis* 25,492株（11.3%)であった。

髄液検体からは3,633株が分離された。分離菌のうち上位3菌種は、*S. epidermidis* 669株（18.4%）、*S. epidermidis* を除くCNS 567株（15.6%）、*S. aureus* 429株（11.8%）で、いずれもブドウ球菌属であった。

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1,765,421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14.12%にあたる249,294人より分離されており、次いで *E. coli* が216,959人（12.29%）、*P. aeruginosa* 114,532人（6.49%）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6.93%にあたる122,407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1,526人（0.09%）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336人（0.02%）、多剤耐性アシネトバクター属（MDRA）は116人（0.01%）とMDRPに比較して分離患者数は少なかった。MDRA分離率を詳細にみると2010年0.005%、2011年0.009%、2012年0.011%と増加傾向であったが、2013年は0.006%、2014年は0.007%であり横ばいであった。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897医療機関すべてから分離が報告され、MDRPは44.1%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8.8%、MDRAは3.3%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.6 データの精度管理参照)については、耐性または非感性と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57.7%が耐性、エリスロマイシン（EM）に対しては23.8%が耐性であった。セファゾリン（CEZ）には99.8%が感性であり、レボフロキサシン（LVFX）には88.1%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%（89株）が中等度耐性であった。テイコプラニン（TEIC）に対しては115,748株のうち12株が中等度耐性、5株が耐性であった。リネゾリド（LZD）に対してもほぼすべてが感性であ

り 90,153 株中 27 株のみが非感性であった。

S. epidermidis は、メチシリン（MPIPC）に対して 21.5%が感性であったが、VCM に対しては 70,699 株中 13 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、MPIPC に対して 28.2%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 97.5%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 98.1%、99.7%が感性であったが、*E. faecium* ではどちらも 86.9%が耐性であった。また VCM には *E. faecalis* は 82,928 株中 32 株を除きほぼすべてが感性、*E. faecium* は 98.6%が感性であり、中等度耐性と耐性はいずれも 0.7%であった。

S. pneumoniae については 5 種類の集計方法に基づく抗菌薬感受性を示した。全ての検体由来の *S. pneumoniae* を CLSI 2007 の基準で判定したもの（p.20）に加え、髄液検体由来と髄液以外の検体由来に分けたうえで、CLSI 2007 の基準で判定したもの（p.21-22）と CLSI 2009 の基準で判定したもの（p.23-24）である。全ての検体および髄液以外の検体由来の *S. pneumoniae* では髄膜炎以外（nonmeningitis）の場合の基準を、髄液検体由来の場合は髄膜炎(meningitis)の場合の基準を用いていた。なお、髄膜炎(meningitis)と髄膜炎以外（nonmeningitis）とで基準が異なるのは CLSI 2007 ではセフォタキシム（CTX）のみであるが、CLSI 2009 では、CTX に加えて PCG も異なっている。

全ての検体由来の *S. pneumoniae* を CLSI 2007 髄膜炎以外（nonmeningitis）の基準で判定した抗菌薬感受性(p.20)では、PCG 中等度耐性は 34.3%、耐性は 11.0%であった。またメロペネム(MEPM)に対しては中等度耐性は 12.1%、耐性は 5.5%、CTX に対しては中等度耐性は 1.7%、耐性は 1.8%、LVFX に対しては、中等度耐性 0.5%、耐性は 3.4%であった。VCM に対しては（判定不能を除く）すべてが感性であった。

髄液以外の検体由来の *S. pneumoniae* を CLSI 2007 髄膜炎以外（nonmeningitis）の基準で判定した抗菌薬感受性（p.22）は上記とほぼ同じ結果であった。これは、髄液検体由来の *S. pneumoniae* の株数が約 80 株であり、*S. pneumoniae* 総数の約 27,000 株に比べ極めて少なく、髄液検体由来株を除いた影響がほとんどないためと考えられる。一方、髄膜炎以外（nonmeningitis）での PCG 基準が CLSI 2007（感性：0.06μg/ml 以下）よりも引き上げられた CLSI 2009（感性：2μg/ml 以下）で判定した抗菌薬感受性では(p.24)、PCG 中等度耐性は 1.9%、耐性は 0.5%と大きく減少していた。

髄液検体由来の *S. pneumoniae* を CLSI 2007 髄膜炎(meningitis)の基準で判定した抗菌薬感受性（p.21）では、PCG 中等度耐性は 36.9%、耐性は 10.7%であった。また MEPM に対しては中等度耐性は 13 株、耐性は 1 株、CTX に対しては中等度耐性は 5 株、耐性は 2 株であり、LVFX に対しては、1 株が耐性であった。VCM に対してはすべてが感性であった。

髄膜炎(meningitis)での PCG 基準は、CLSI 2009（感性：0.06μg/ml 以下、耐性：0.12μg/ml

以上）がCLSI 2007（感性：0.06μg/ml以下、耐性：2μg/ml以上）と比べ耐性の基準が引き下げられており、かつ、中等度耐性のカテゴリーがなくなった。その結果、髄液検体由来の*S. pneumoniae*をCLSI 2009髄膜炎(meningitis)の基準で判定した抗菌薬感受性（p.23）では、PCG耐性が47.6%であった。

*S. pyogenes*では、PCG、ABPCに対しては（判定不能を除く）すべてが感性であった。しかしEMは35.5%が耐性であった。*S. agalactiae*では、PCG、ABPC、CTXにそれぞれ5.7%、1.5%、2.8%が非感性であった。

集計を行った腸内細菌科の9菌種（*E. coli*、*K. pneumoniae*、*Enterobacter cloacae*、*Enterobacter aerogenes*、*Citrobacter freundii*、*Citrobacter koseri*、*Proteus mirabilis*、*Proteus vulgaris*、*S. marcescens*）については、CLSIで第三世代セファロスポリン系抗菌薬やカルバペネム系抗菌薬のブレイクポイントが変更されたため、一部の薬剤（特にCTX）で判定不能がみられた。

*E. coli*と*K. pneumoniae*では、第三世代セファロスポリン系抗菌薬であるCTXおよびセフタジジム（CAZ）に対し、*E. coli*は12.6%と3.7%、*K. pneumoniae*は3.3%と2.0%が耐性であった。

カルバペネム系抗菌薬の対する腸内細菌科9菌種全体の抗菌薬感受性は、イミペネム（IPM）は耐性が0.2%であり、MEPMのそれは0.1%であった。菌種別にみると、IPM耐性の割合が高かったのは、*P. mirabilis*、*P. vulgaris*でそれぞれ2.4%、1.5%であったが、これらの菌種のMEPMに対する耐性の割合は0.0%であった。一方、*E. cloacae*、*E. aerogenes*、*C. koseri*では、IPM耐性の割合は0.2%、0.4%、0.2%であり、MEPM耐性の割合も0.3%、0.1%、0.4%と両方の抗菌薬において腸内細菌科の菌種の中では耐性の割合がやや高かった。分離株数の多い*E. coli*、*K. pneumoniae*については、IPM耐性の割合はそれぞれ0.0%と0.1%、MEPM耐性の割合は0.1%と0.2%であった。

また腸内細菌科9菌種のLVFXに対する耐性の割合は、18.5%であり、菌種別では、*E. coli*の36.1%が最も高く、次いで*P. mirabilis* 14.8%、*C. koseri* 12.6%であった。一方、最も低いのは*P. vulgaris*で0.4%、次いで*E. aerogenes* 1.0%, *K. pneumoniae* 2.4%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79.6%、85.3%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82.6%、95.2%が、フルオロキノロン系のLVFXに対しては80.1%が感性であった。

Acinetobacter spp.では、IPM、MEPMに対して、それぞれ95.9%、97.2%が感性であった。またGMとAMKに対しては87.9%、95.7%、LVFXに対しては87.8%が感性であった。

*H. influenzae*では、41.9%がABPCに対して感性、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69.9%、79.4%が感性であった。

JANIS

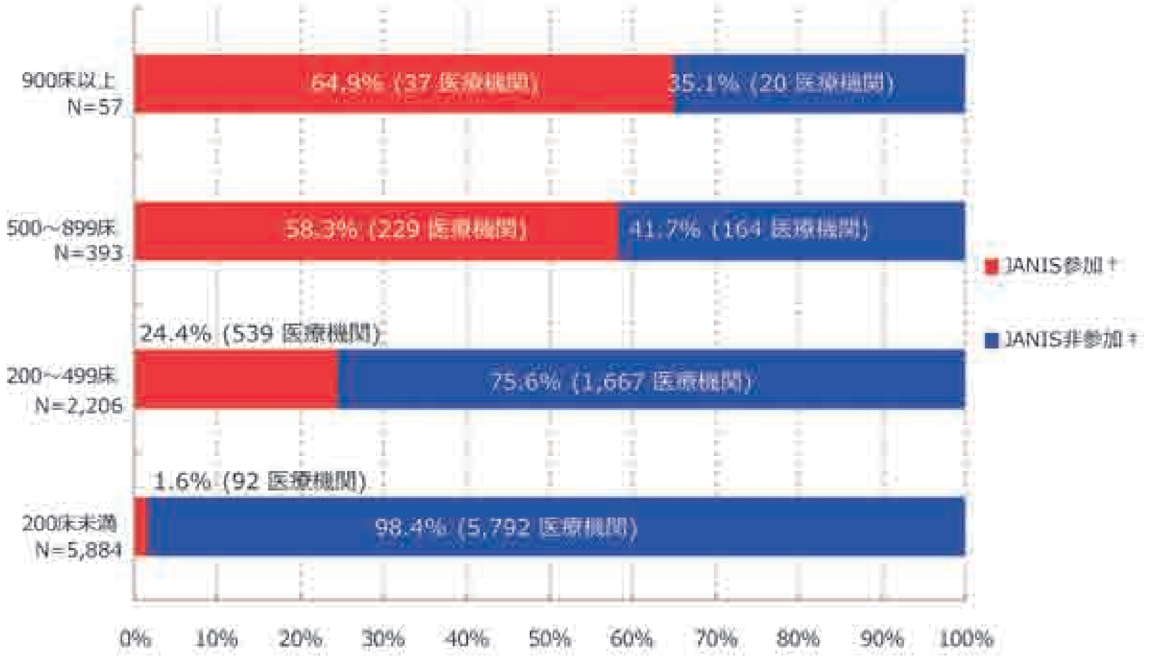
データの精度管理

2014年1月～12月のうち、一部でもデータが未提出の11医療機関は集計対象外とした。下記の基準に該当する入院検体について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14医療機関（微量液体希釈法での報告がない8医療機関を含む）についても集計から除外した。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。

精度管理の条件

- 年間を通じて提出検体がない。
- 年間を通じてMRSAおよび大腸菌の報告がない。
- 年間を通じて血液検体、尿検体、呼吸器検体の報告がない。
- 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50%以上
- 髄液検体が年間 5 検体以上報告され、かつ陽性検体の割合が50%以上。
- 国内で過去に報告がない薬剤耐性菌（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*
  - ・ VCM 耐性の *S. aureus*
- 微量液体希釈法での報告がない。

1. データ提出医療機関*数(897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 = 2014年1～12月 集計対象医療機関数
‡JANIS非参加 = (2013年 全国医療機関数¶) − (2014年1～12月 集計対象医療機関数)

病床数	2013年 全国医療機関数¶	2014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	57	37	(64.9%)
500～899床	393	229	(58.3%)
200～499床	2,206	539	(24.4%)
200床未満	5,884	92	(1.6%)
病床数不明	-	0	(-)
合計	8,540	897	(10.5%)

¶平成25年医療施設(動態)調査を参照した

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: 2015年06月10日
公開情報掲載日: 2015年10月26日

2. データ提出医療機関数、検体数、分離菌数

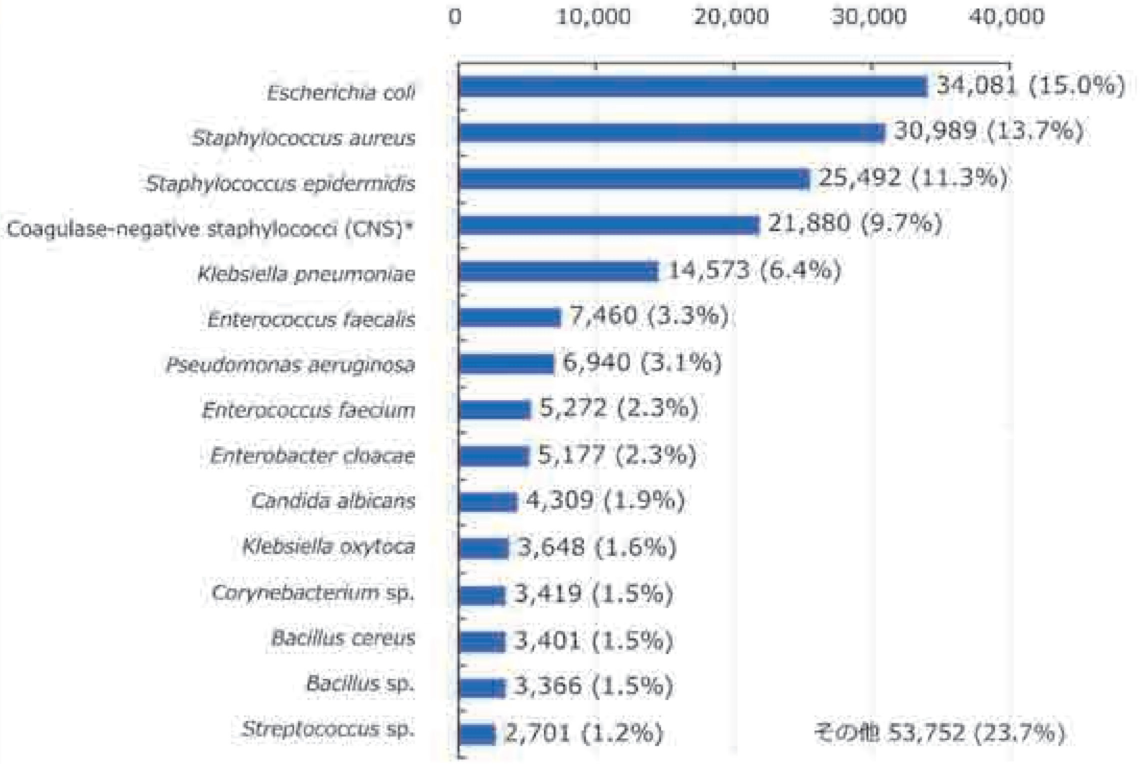
検査材料分類	集計対象医療機関数	検体数	陽性検体数 (分離菌数)
呼吸器系検体	897	1,488,882	942,330 (1,978,204)
尿検体	895	621,446	325,947 (497,438)
便検体	894	401,659	198,141 (392,408)
血液検体	896	1,562,028	200,174 (226,460)
髄液検体	801	63,505	3,262 (3,633)
その他	897	1,000,110	460,798 (817,695)
合計	897	5,137,630	2,130,652 (3,915,838)

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
検査材料分類は以下に該当する検査材料コードを集計
呼吸器系検体：
101(喀出痰)、102(気管内採痰)、103(気管支洗浄液)、104(咽頭粘液)、105(鼻腔内)、106(口腔内)、107(生検材料(肺))、その他(呼吸器)、404(胸水)
尿検体：
201(自然排尿)、202(採尿カテーテル)、203(留置カテーテル)、206(カテーテル尿(採尿、留置カテの区別不能))
便検体：
301(糞便)
血液検体：
401(静脈血)、402(動脈血)
髄液検体：
403(髄液)
その他：上記以外の検査材料コード
検査材料コード：JANISホームページ> 各部門について> 検査部門 http://www.nih-janis.jp/section/kensa.html

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: 2015年06月10日
公開情報掲載日: 2015年10月26日

3. 検査材料別分離菌数割合

血液検体分離菌 (N=226,460)



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

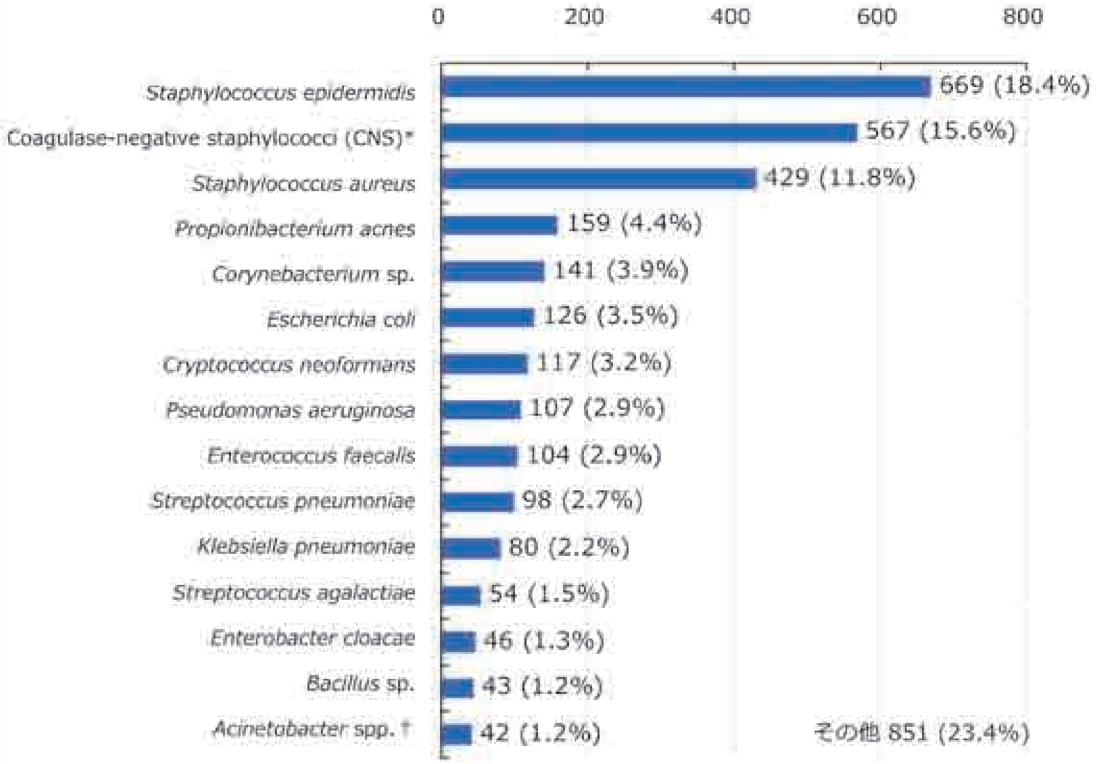
入院として報告された検体を集計
分離菌数割合が四捨五入して小数第一位までの表示で[0.0%]になる菌、菌名コード9998(その他の菌種)、16位以下の菌は「その他」に集計
集計対象菌：菌名コード9996(ウイルスによる(疑いもふくむ))、9997(菌不明)、9999(コメントのみ)の報告以外の全ての菌
集計対象検査材料：静脈血(検査材料コード401)と動脈血(同402)
血液検体分離菌数割合 ＝ （対象菌の血液検体分離菌数）÷（血液検体分離菌数合計）×100
菌名コード、検査材料コード
：JANISホームページ＞各部門について＞検査部門 http://www.nih-janis.jp/section/kensa.html

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：　2015年06月10日
公開情報掲載日：　2015年10月26日

Japan Nosocomial Infections Surveillance

3. 検査材料別分離菌数割合

髄液検体分離菌 (N=3,633)



*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

分離菌数割合が四捨五入して小数第一位までの表示で[0.0%]になる菌，菌名コード9998(その他の菌種)，16位以下の菌は「その他」に集計

集計対象菌：菌名コード9996(ウイルスによる(疑いもふくむ))，9997(菌不明)，9999(コメントのみ)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，検査材料コード

：JANISホームページ＞各部門について＞検査部門 http://www.nih-janis.jp/section/kensa.html

4. 主要菌分離患者数*と全医療機関†の分離率分布

	2010年 患者数 (分離率‡)	2011年 患者数 (分離率‡)	2012年 患者数 (分離率‡)	2013年 患者数 (分離率‡)	2014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	1,069,216人	1,309,993人	1,453,969人	1,584,041人	1,765,421人	
S. aureus	175,145人 (16.38%)	210,382人 (16.06%)	221,239人 (15.22%)	231,909人 (14.64%)	249,294人 (14.12%)	2.57 14.07 47.62
S. epidermidis	47,523人 (4.44%)	64,588人 (4.93%)	65,531人 (4.51%)	69,423人 (4.38%)	75,518人 (4.28%)	0.00 2.63 35.95
S. pneumoniae	31,426人 (2.94%)	32,501人 (2.48%)	30,484人 (2.10%)	32,083人 (2.03%)	32,667人 (1.85%)	0.00 1.37 14.93
E. faecalis	59,458人 (5.56%)	75,862人 (5.79%)	82,510人 (5.67%)	87,239人 (5.51%)	94,994人 (5.38%)	0.00 4.83 25.09
E. faecium	18,674人 (1.75%)	23,523人 (1.80%)	26,941人 (1.85%)	29,540人 (1.86%)	32,651人 (1.85%)	0.00 1.48 25.06
E. coli	118,958人 (11.13%)	151,601人 (11.57%)	171,361人 (11.79%)	189,127人 (11.94%)	216,959人 (12.29%)	2.67 12.38 41.36
K. pneumoniae	60,040人 (5.62%)	77,702人 (5.93%)	85,532人 (5.88%)	93,395人 (5.90%)	105,031人 (5.95%)	0.00 5.82 47.26
Enterobacter spp.	40,363人 (3.78%)	53,484人 (4.08%)	57,843人 (3.98%)	62,966人 (3.98%)	68,641人 (3.89%)	0.00 3.42 13.39
S. marcescens	15,116人 (1.41%)	18,762人 (1.43%)	19,452人 (1.34%)	20,358人 (1.29%)	23,088人 (1.31%)	0.00 1.12 34.79
P. aeruginosa	80,160人 (7.50%)	99,299人 (7.58%)	101,821人 (7.00%)	105,968人 (6.69%)	114,532人 (6.49%)	0.00 6.25 61.37
Acinetobacter spp.	16,107人 (1.51%)	20,551人 (1.57%)	20,997人 (1.44%)	23,447人 (1.48%)	23,558人 (1.33%)	0.00 0.97 21.37

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

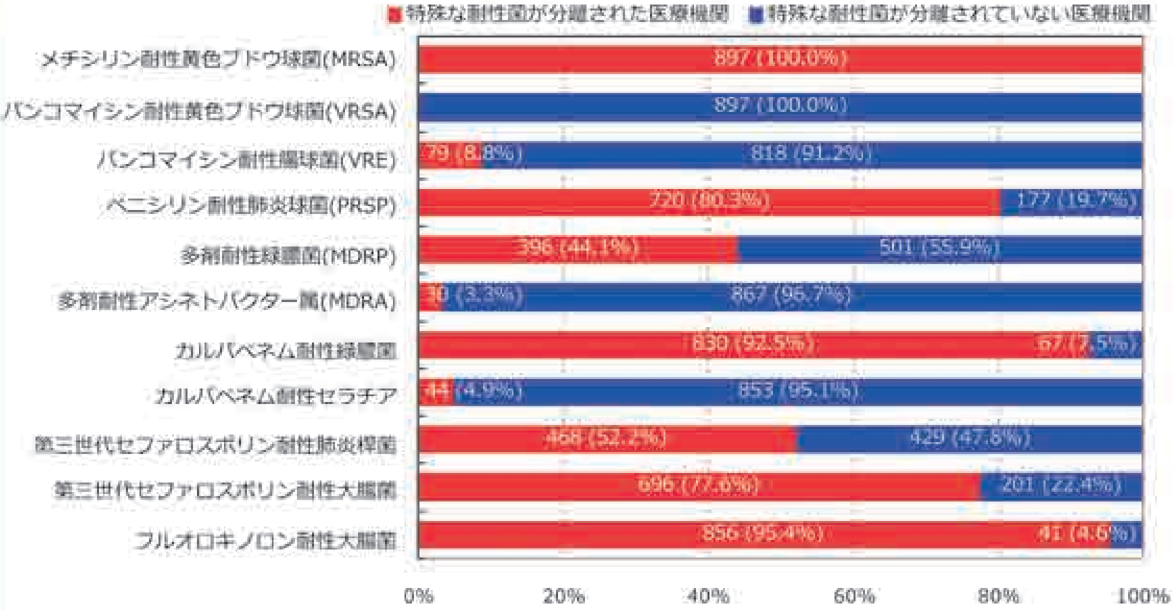
5. 特定の耐性菌分離患者数*と全医療機関†の分離率分布

	2010年 患者数 (分離率‡)	2011年 患者数 (分離率‡)	2012年 患者数 (分離率‡)	2013年 患者数 (分離率‡)	2014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	1,069,216人	1,309,993人	1,453,969人	1,584,041人	1,765,421人	
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)	100,845人 (9.43%)	114,933人 (8.77%)	117,209人 (8.06%)	118,539人 (7.48%)	122,407人 (6.93%)	1.05 6.92 34.22
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)	520人 (0.05%)	407人 (0.03%)	236人 (0.02%)	289人 (0.02%)	336人 (0.02%)	0.00 0.00 1.97
ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)	14,769人 (1.38%)	15,062人 (1.15%)	12,874人 (0.89%)	12,593人 (0.79%)	12,136人 (0.69%)	0.00 0.46 14.03
多剤耐性緑膿菌(MDRP)	1,872人 (0.18%)	2,388人 (0.18%)	2,059人 (0.14%)	1,822人 (0.12%)	1,526人 (0.09%)	0.00 0.00 4.70
多剤耐性アシネトバクター属(MDRA)	55人 (0.01%)	115人 (0.01%)	163人 (0.01%)	102人 (0.01%)	116人 (0.01%)	0.00 0.00 4.24
カルバペネム耐性緑膿菌	13,425人 (1.26%)	16,479人 (1.26%)	15,815人 (1.09%)	15,593人 (0.98%)	15,664人 (0.89%)	0.00 0.72 14.86
カルバペネム耐性セラチア	131人 (0.01%)	118人 (0.01%)	76人 (0.01%)	66人 (0.00%)	47人 (0.00%)	0.00 0.00 0.32
第三世代セファロスポリン耐性肺炎桿菌	2,050人 (0.19%)	3,155人 (0.24%)	3,419人 (0.24%)	3,646人 (0.23%)	2,978人 (0.17%)	0.00 0.03 5.40
第三世代セファロスポリン耐性大腸菌	9,196人 (0.86%)	14,927人 (1.14%)	18,843人 (1.30%)	22,212人 (1.40%)	19,164人 (1.09%)	0.00 0.69 13.22
フルオロキノロン耐性大腸菌	22,996人 (2.15%)	33,000人 (2.52%)	41,684人 (2.87%)	49,466人 (3.12%)	59,482人 (3.37%)	0.00 3.42 34.24

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

6. 特定の耐性菌が分離された医療機関の割合

2014年 特定の耐性菌が分離された医療機関の割合 (N=897)



特定の耐性菌が分離された医療機関の割合 (過去5年間)

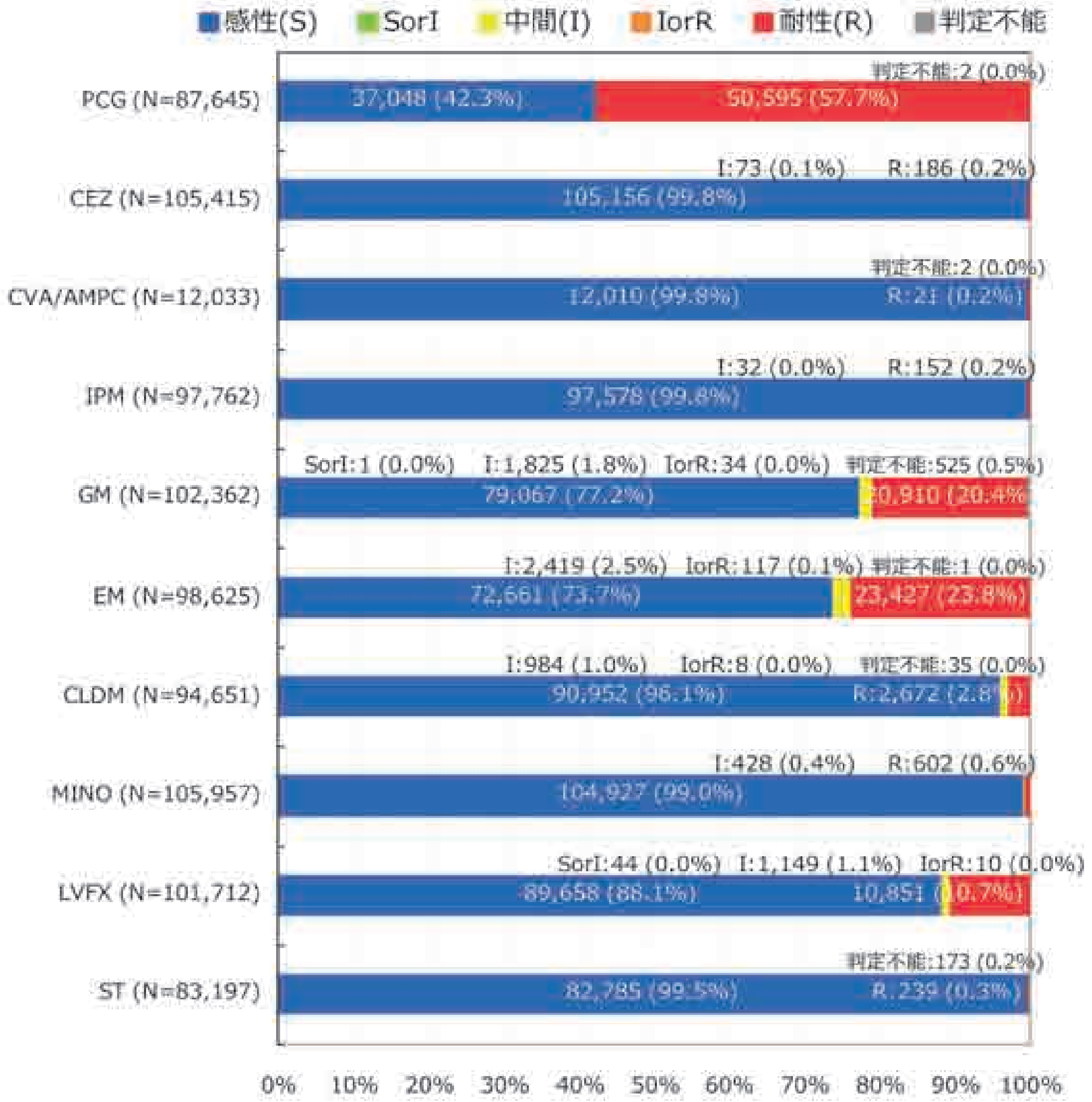
	2010年	2011年	2012年	2013年	2014年
集計対象医療機関数	495	594	660	745	897
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)	11.9%	11.1%	10.8%	8.6%	8.8%
ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)	78.0%	85.0%	83.8%	81.2%	80.3%
多剤耐性緑膿菌(MDRP)	58.8%	59.6%	53.2%	50.2%	44.1%
多剤耐性アシネトバクター属(MDRA)	4.8%	5.2%	4.4%	3.8%	3.3%
カルバペネム耐性緑膿菌	87.9%	94.8%	94.8%	93.4%	92.5%
カルバペネム耐性セラチア	14.7%	13.6%	8.8%	7.9%	4.9%
第三世代セファロスポリン耐性肺炎桿菌	63.2%	69.9%	69.2%	69.3%	52.2%
第三世代セファロスポリン耐性大腸菌	83.2%	91.8%	90.0%	89.9%	77.6%
フルオロキノロン耐性大腸菌	86.9%	94.6%	93.9%	94.9%	95.4%

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
＝（特定の耐性菌が1株でも報告された医療機関数）÷（集計対象医療機関数）

JANIS

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

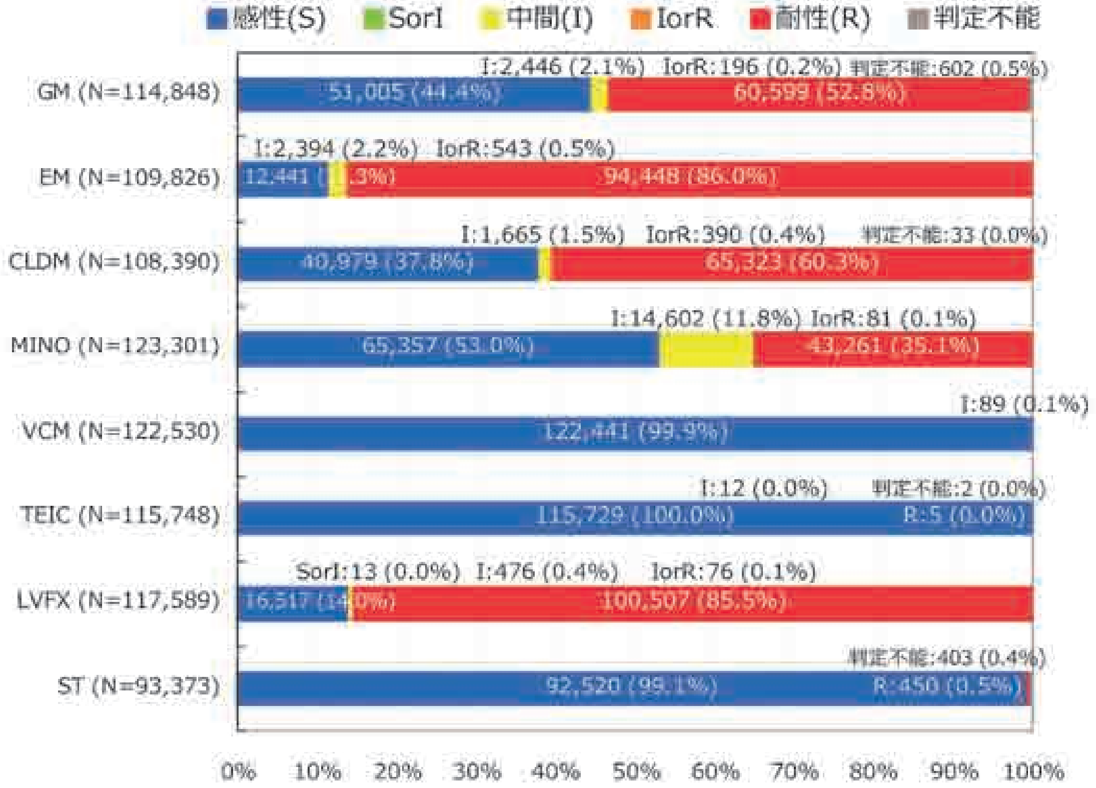
*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠

†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

Japan Nosocomial Infections Surveillance

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

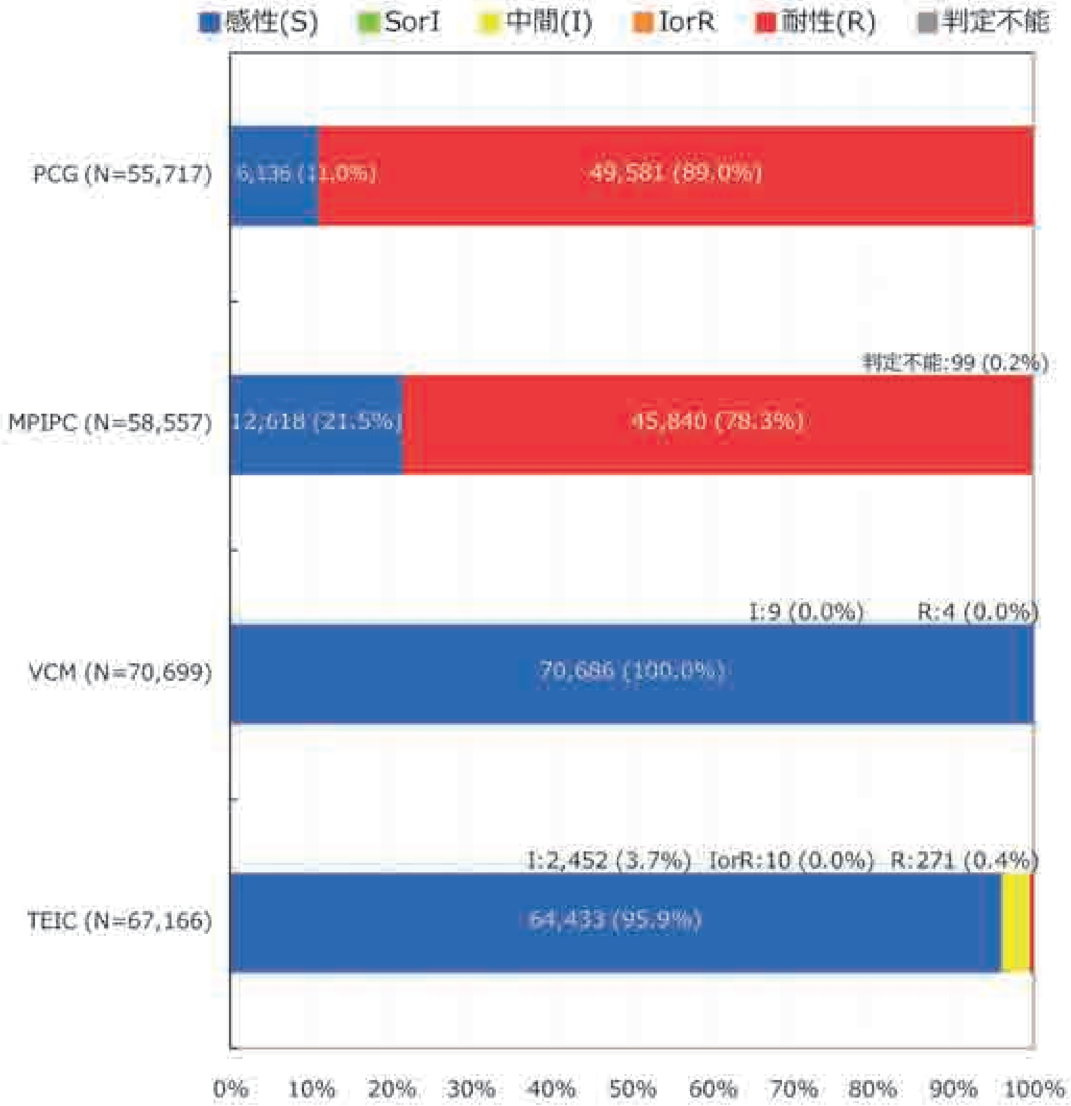
Staphylococcus aureus (MRSA) †



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
*S,I,RまたはS,NSの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：1303と報告された菌および菌名コード：1301と報告され抗菌薬コード：1208（オキサシリン）の感受性結果「R」の菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

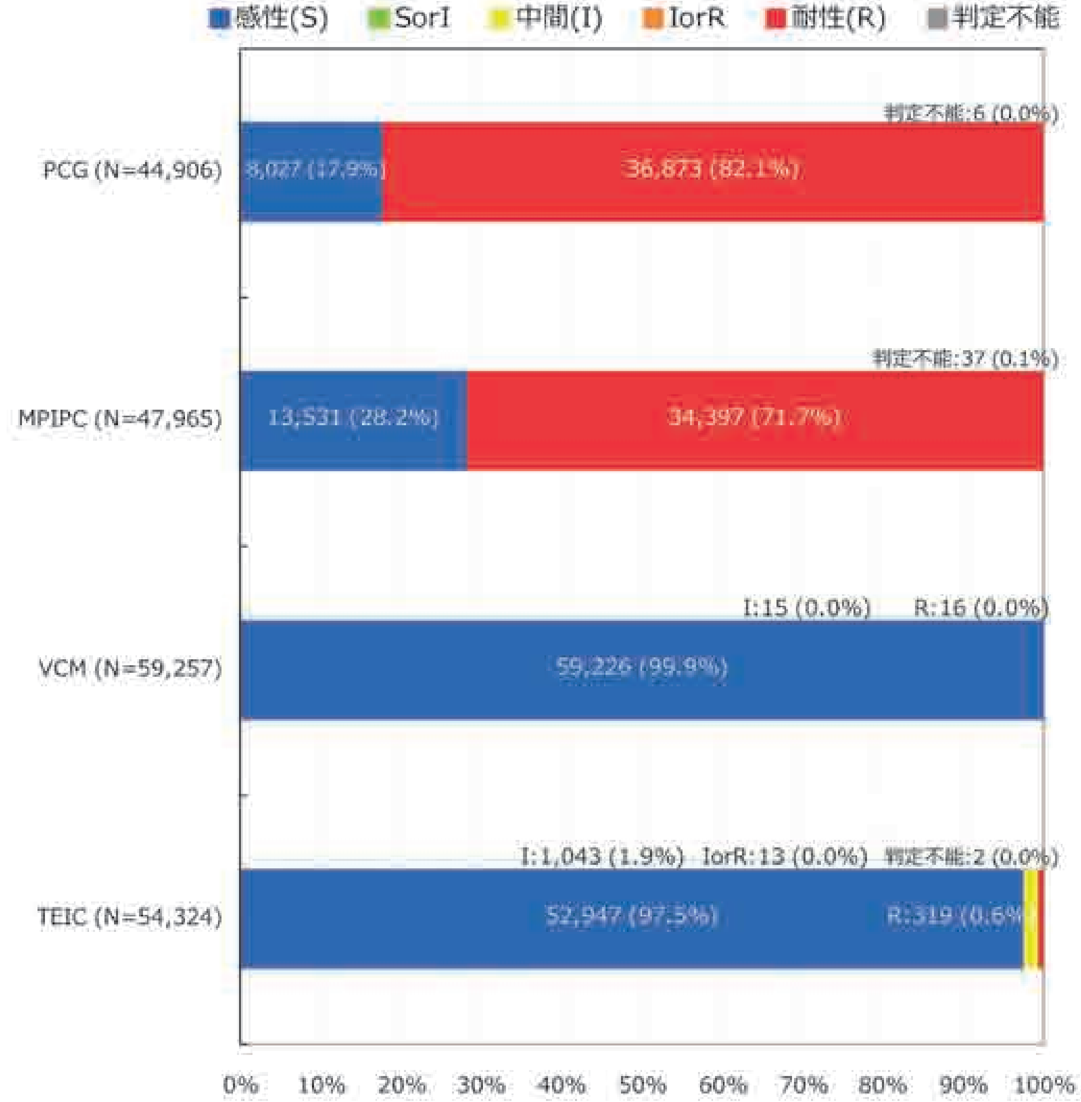
Staphylococcus epidermidis†



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
*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：1312と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

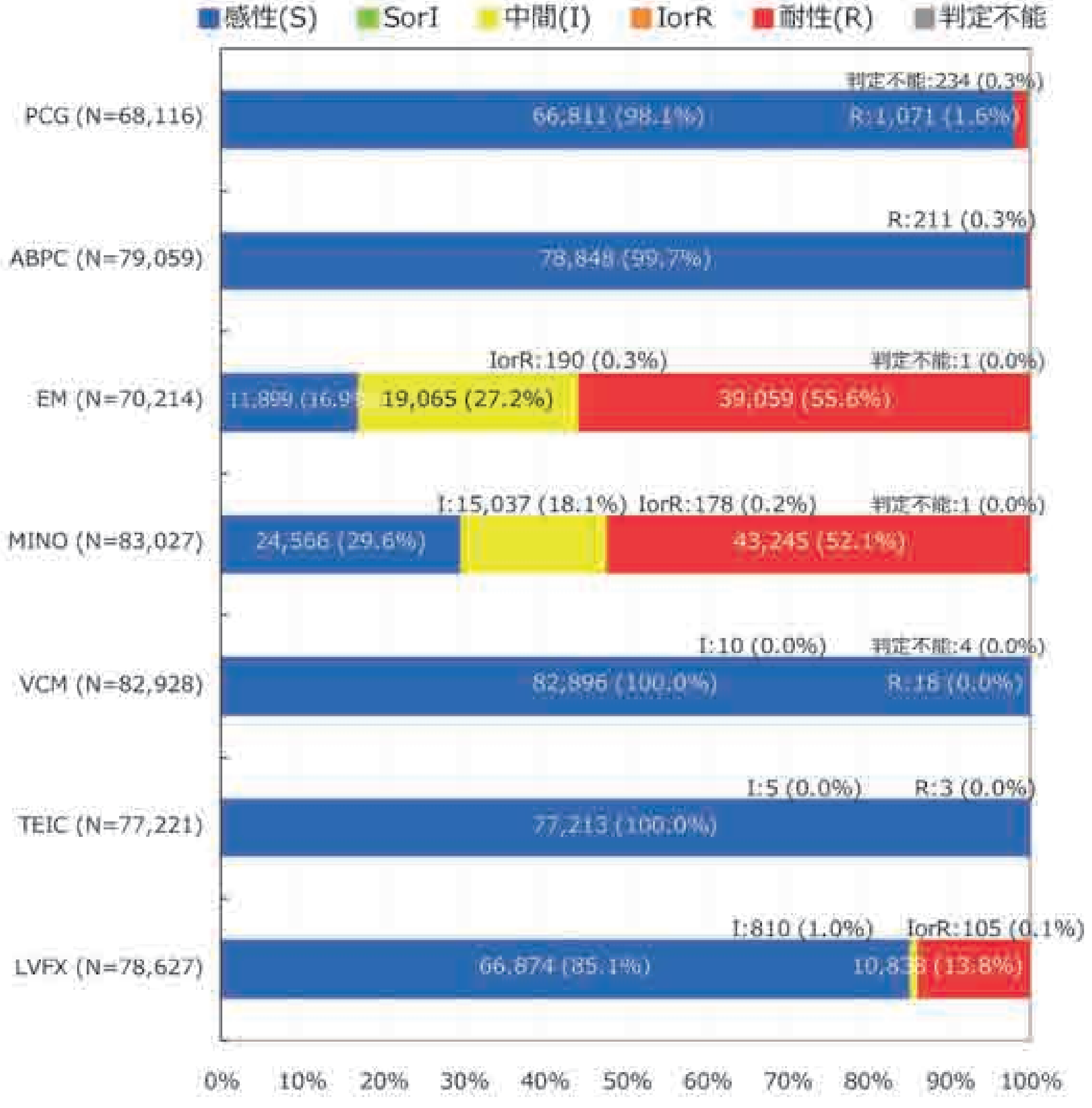
Coagulase-negative staphylococci (CNS) †



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
*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：1311，1313～1325と報告された菌（1312：*Staphylococcus epidermidis*は対象外）

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

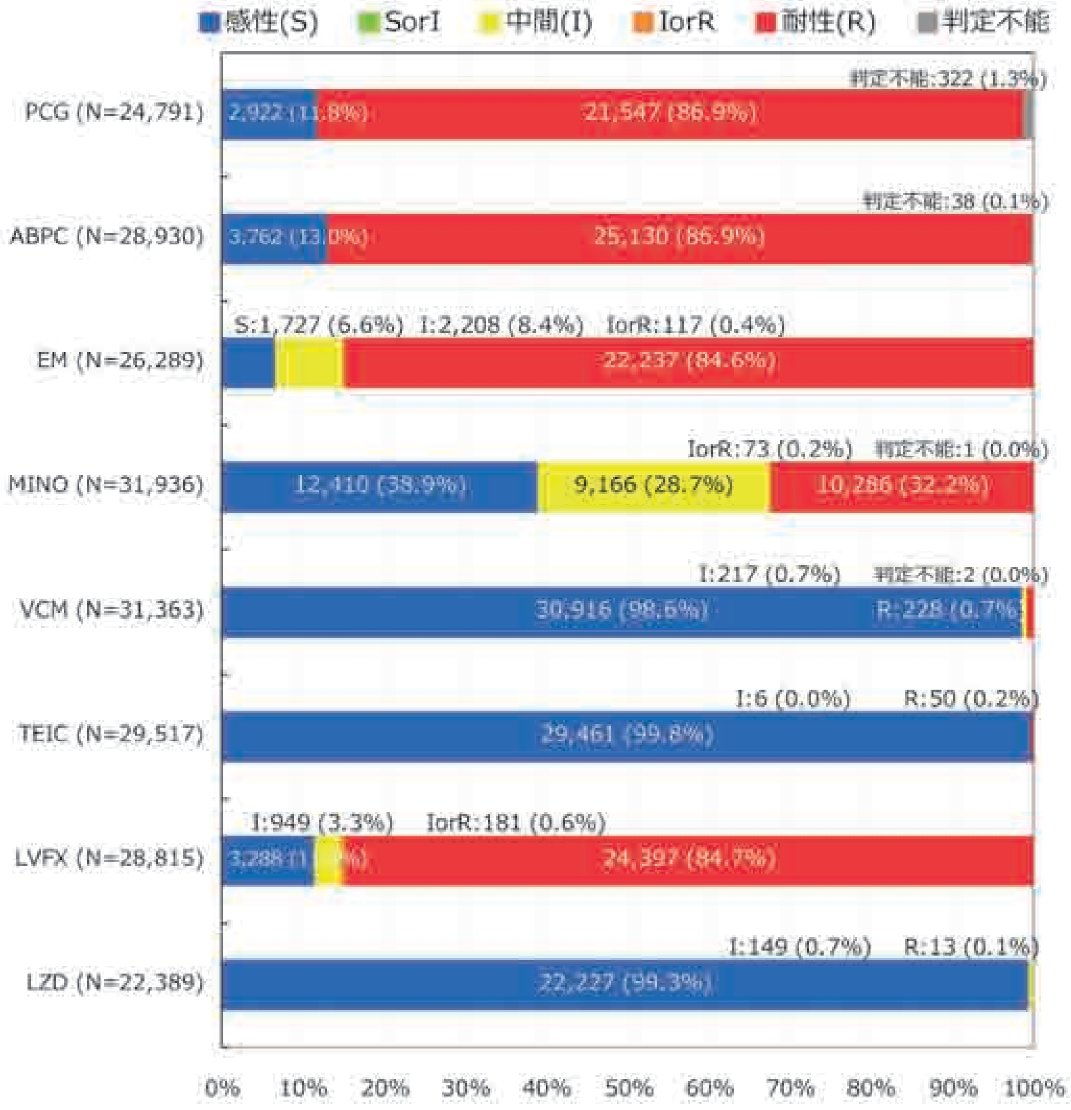
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠

†菌名コード：1201，1202と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

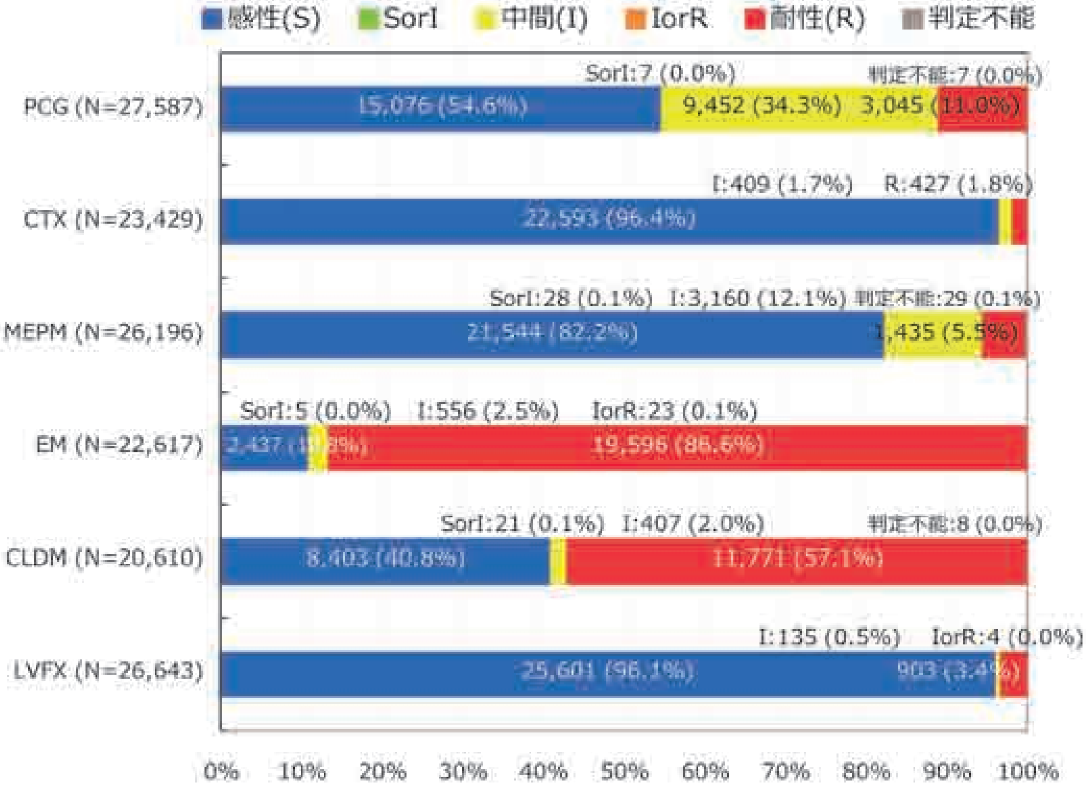
Enterococcus faecium†



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
*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†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*

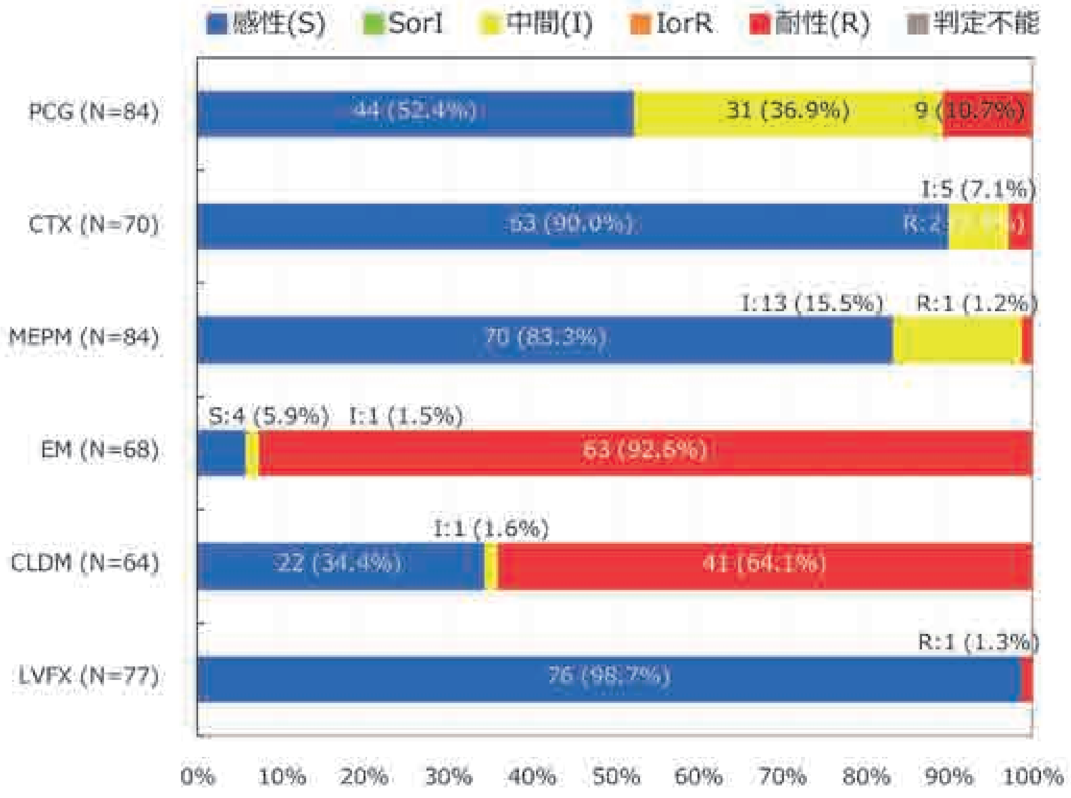
Streptococcus pneumoniae†



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
*S,I,RまたはS,NSの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：1131と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

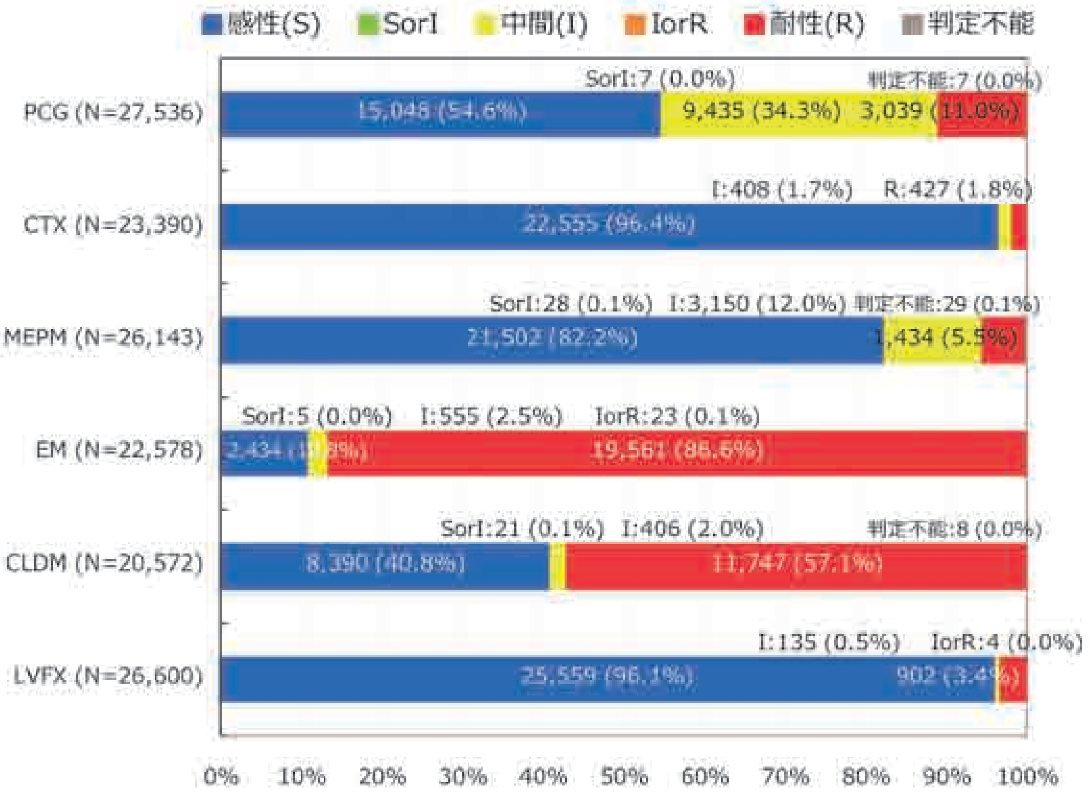
Streptococcus pneumoniae(CLSI2007)(髄液検体)†



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
*S,I,RまたはS,NSの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：1131と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Streptococcus pneumoniae(CLSI2007)(髄液検体以外)†

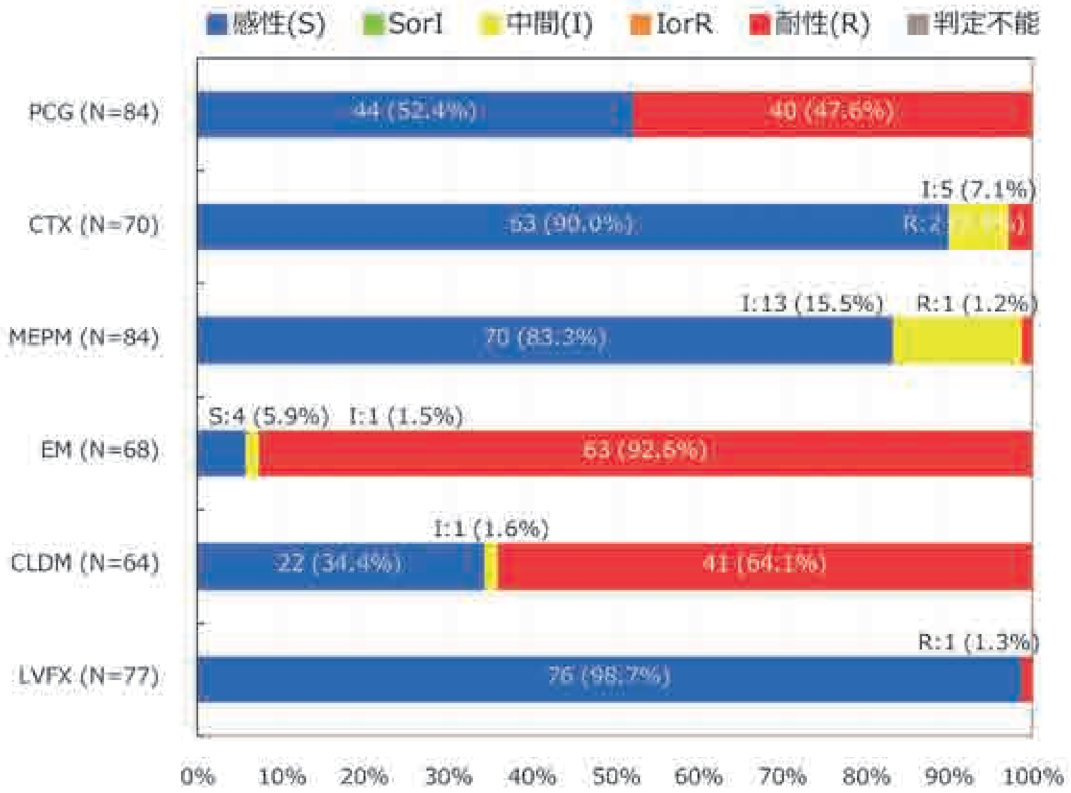


入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*S,I,RまたはS,NSの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：1131と報告された菌

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Streptococcus pneumoniae(CLSI2009)(髄液検体) †



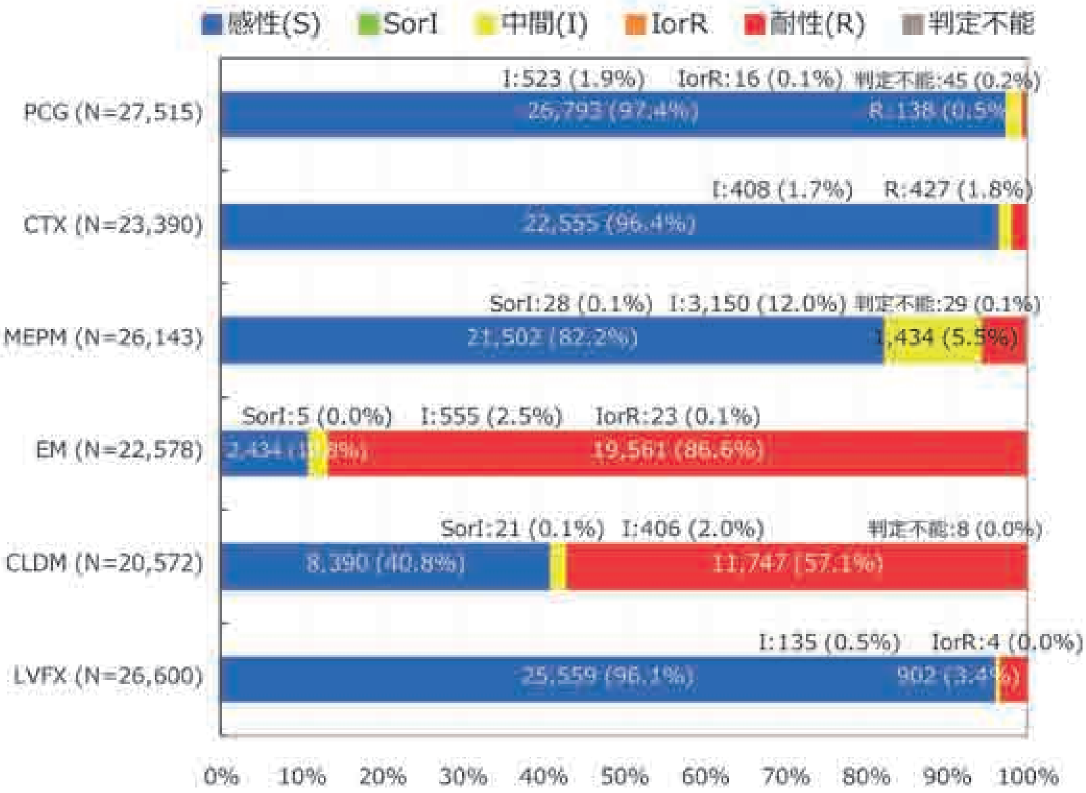
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*S,I,RまたはS,NSの判定はCLSI 2009 (M100-S19) に準拠
†菌名コード：1131と報告された菌

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: 2015年06月10日
公開情報掲載日: 2015年10月26日

Japan Nosocomial Infections Surveillance

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

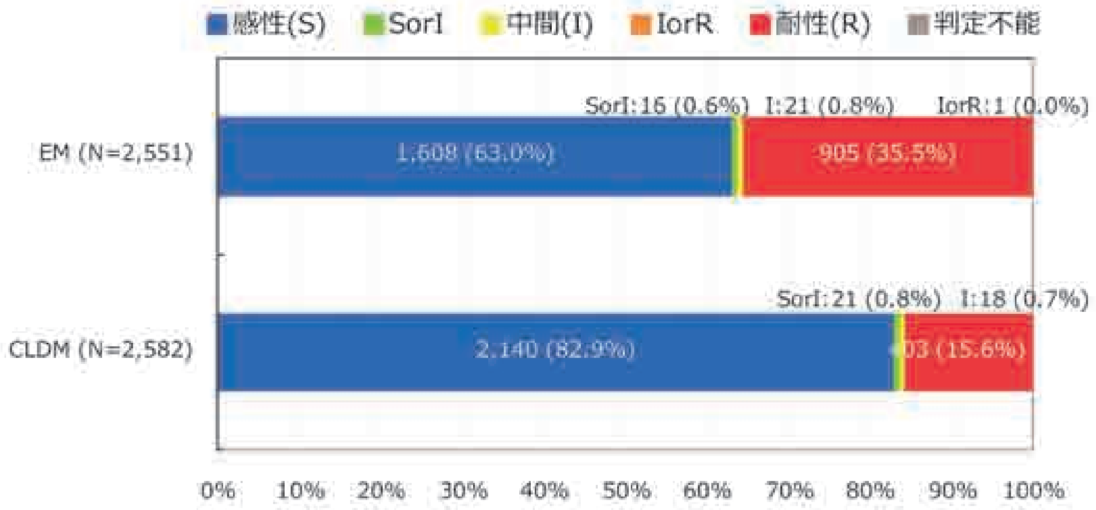
Streptococcus pneumoniae(CLSI2009)(髄液検体以外)†

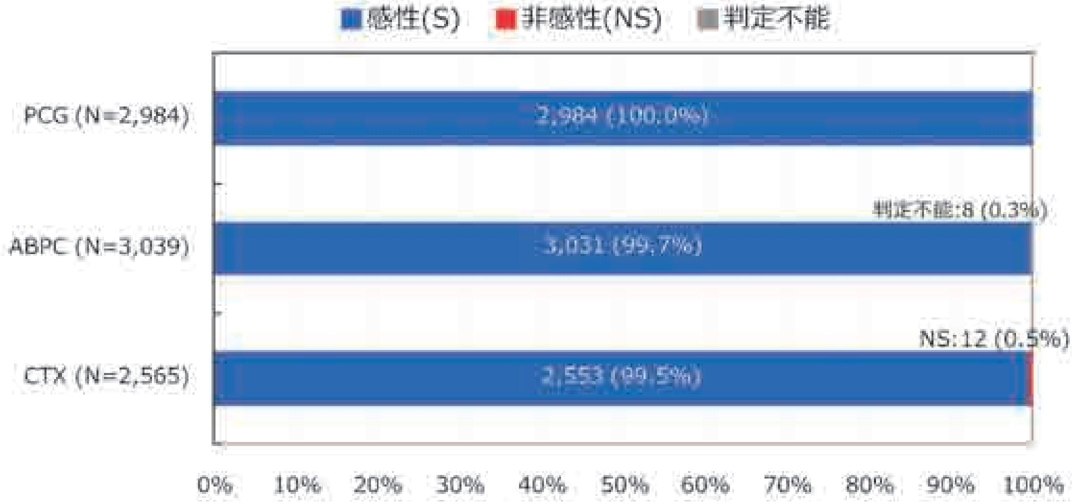


入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*S,I,RまたはS,NSの判定はCLSI 2009 (M100-S19) に準拠
†菌名コード：1131と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Streptococcus pyogenes †

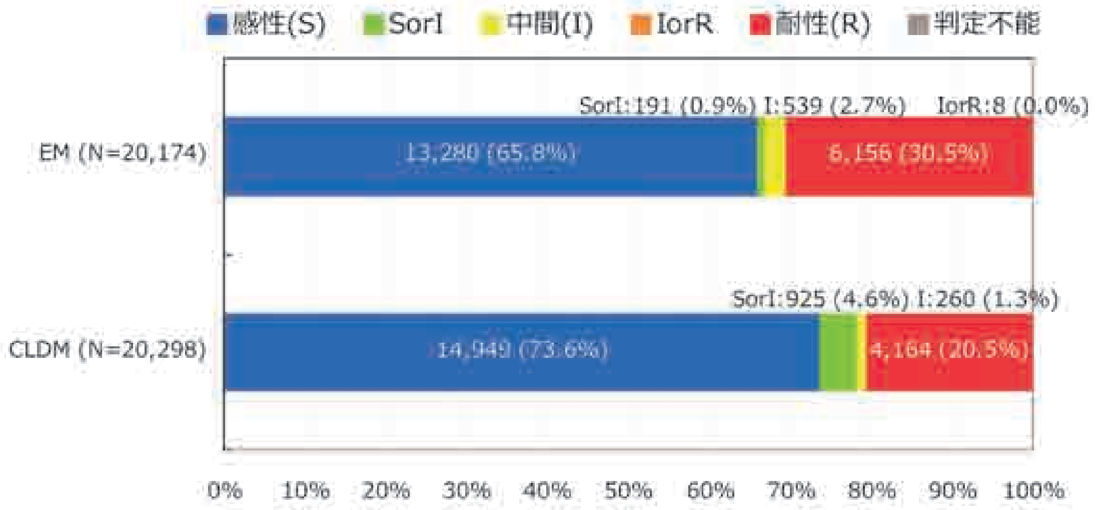


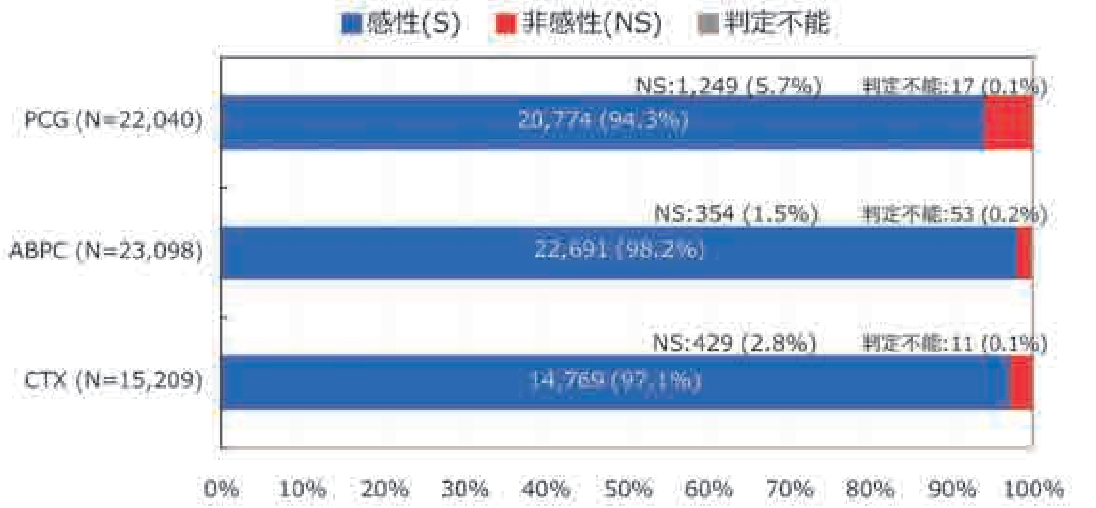


入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*S,I,RまたはS,NSの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：1111と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Streptococcus agalactiae†

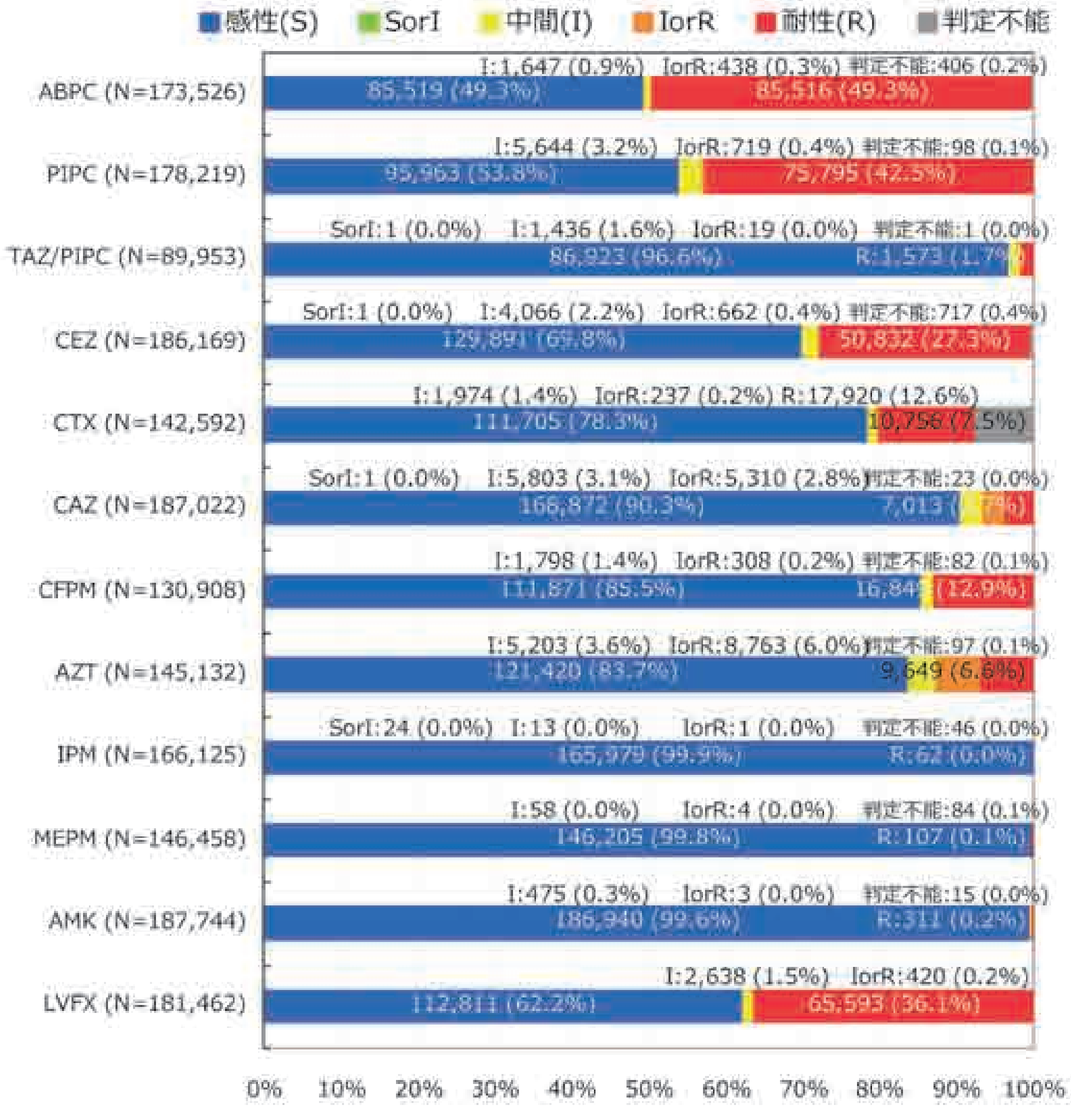




入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*S,I,RまたはS,NSの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：1114と報告された菌

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

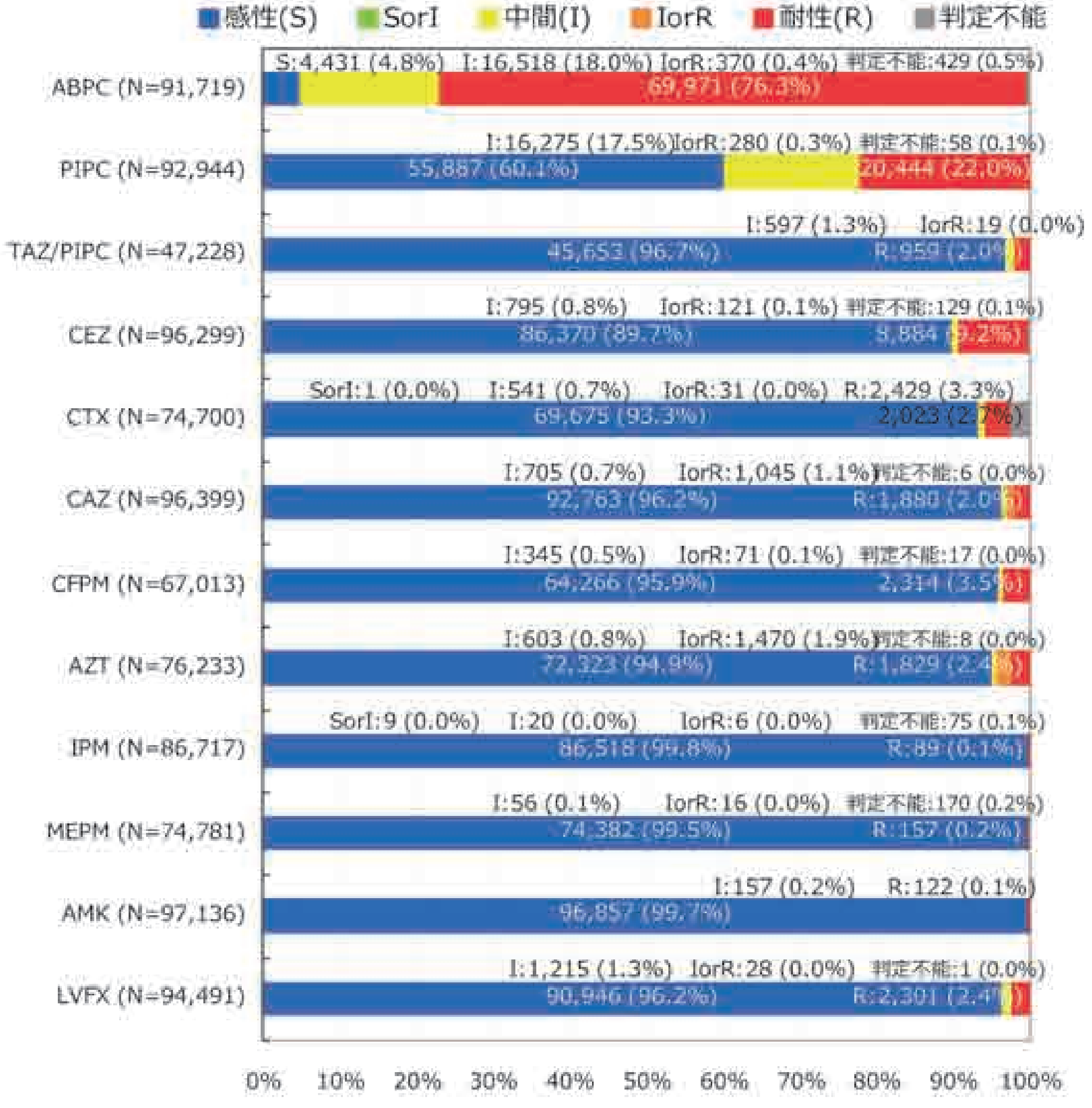
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠

†菌名コード：2001～2007と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

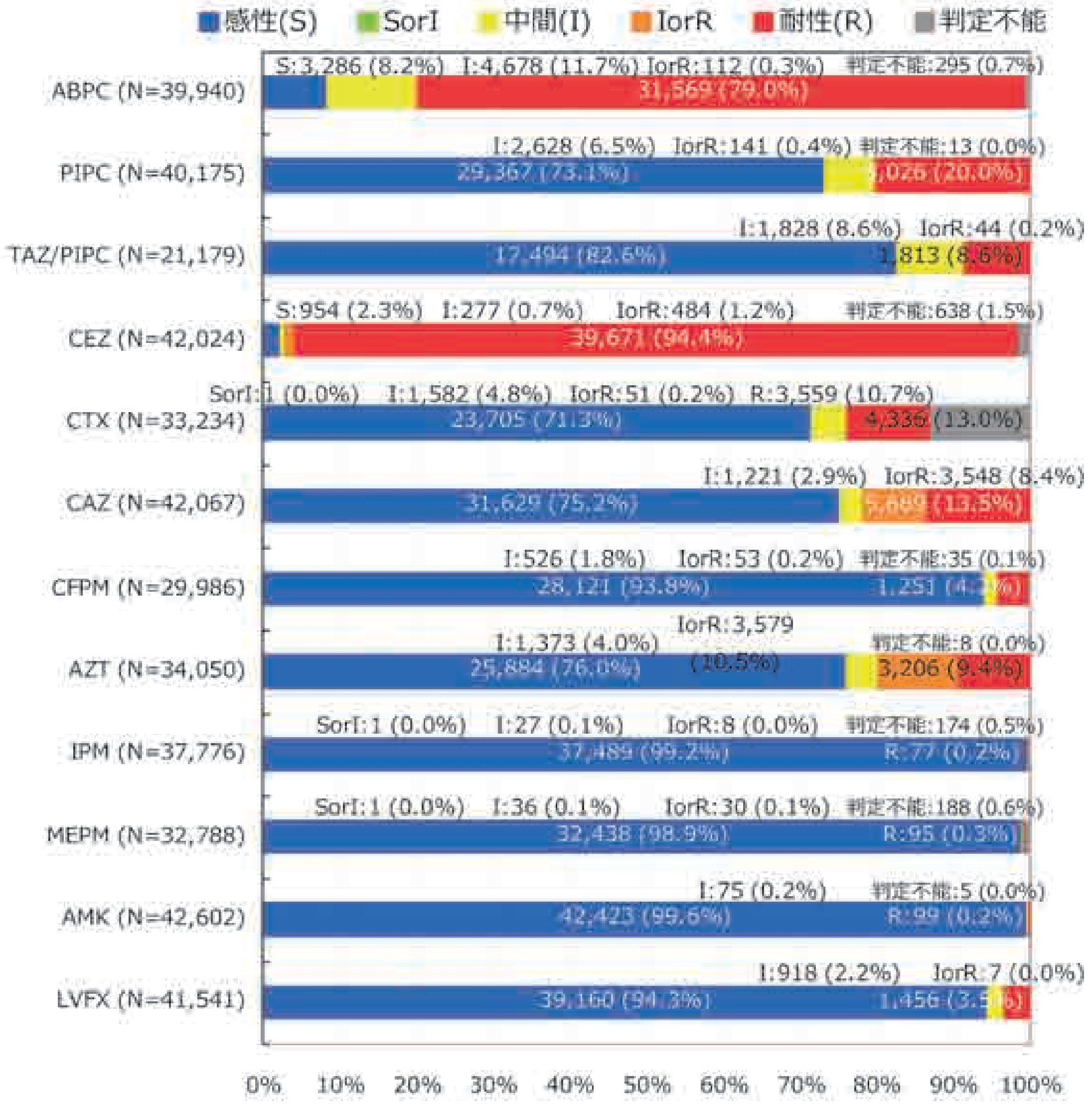
Klebsiella pneumoniae†



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
*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：2351と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Enterobacter cloacae†



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

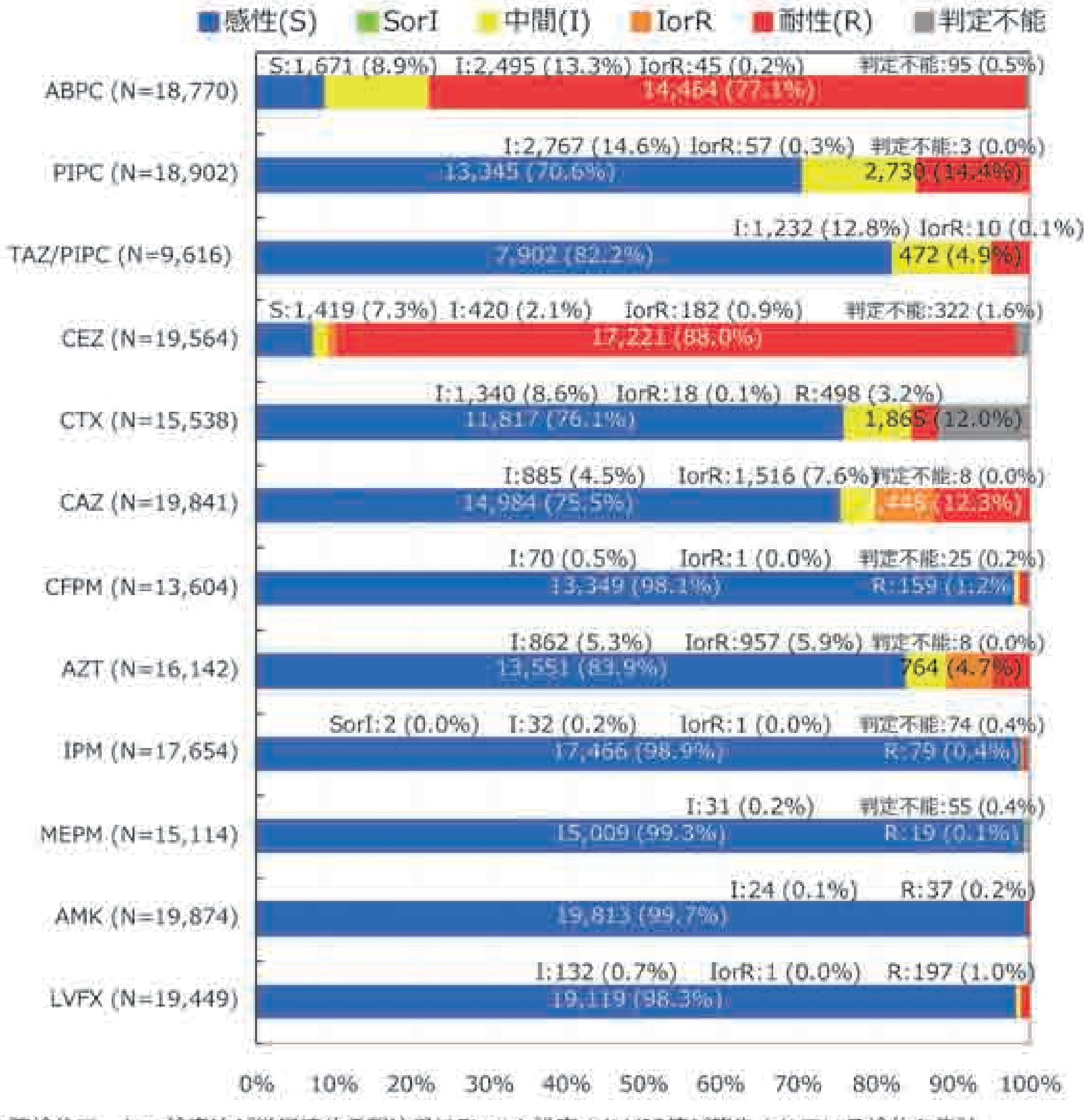
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠

†菌名コード：2151と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

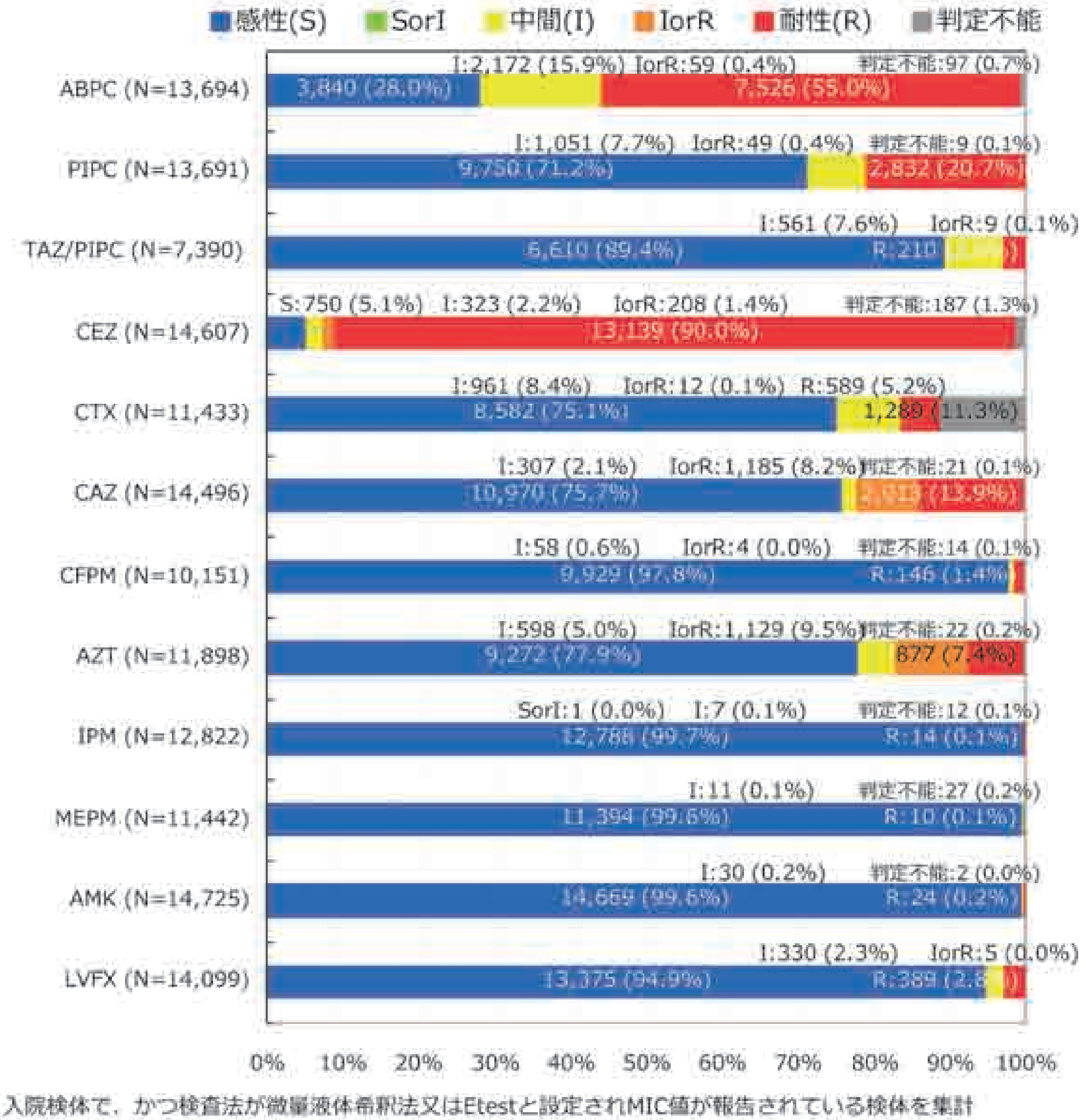
Enterobacter aerogenes †



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
*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
† 菌名コード：2152と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

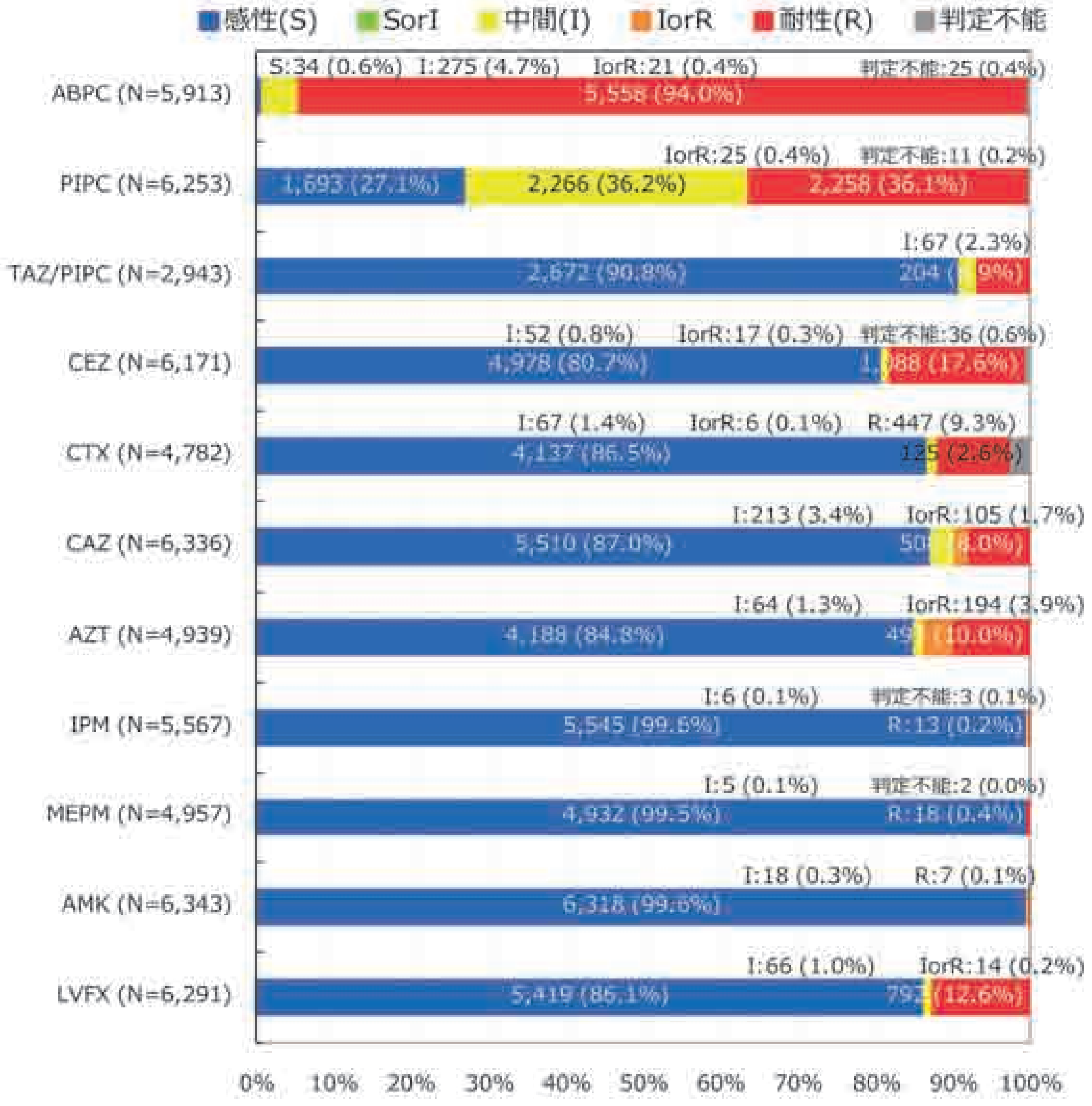
Citrobacter freundii†



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
*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：2051と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Citrobacter koseri†



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

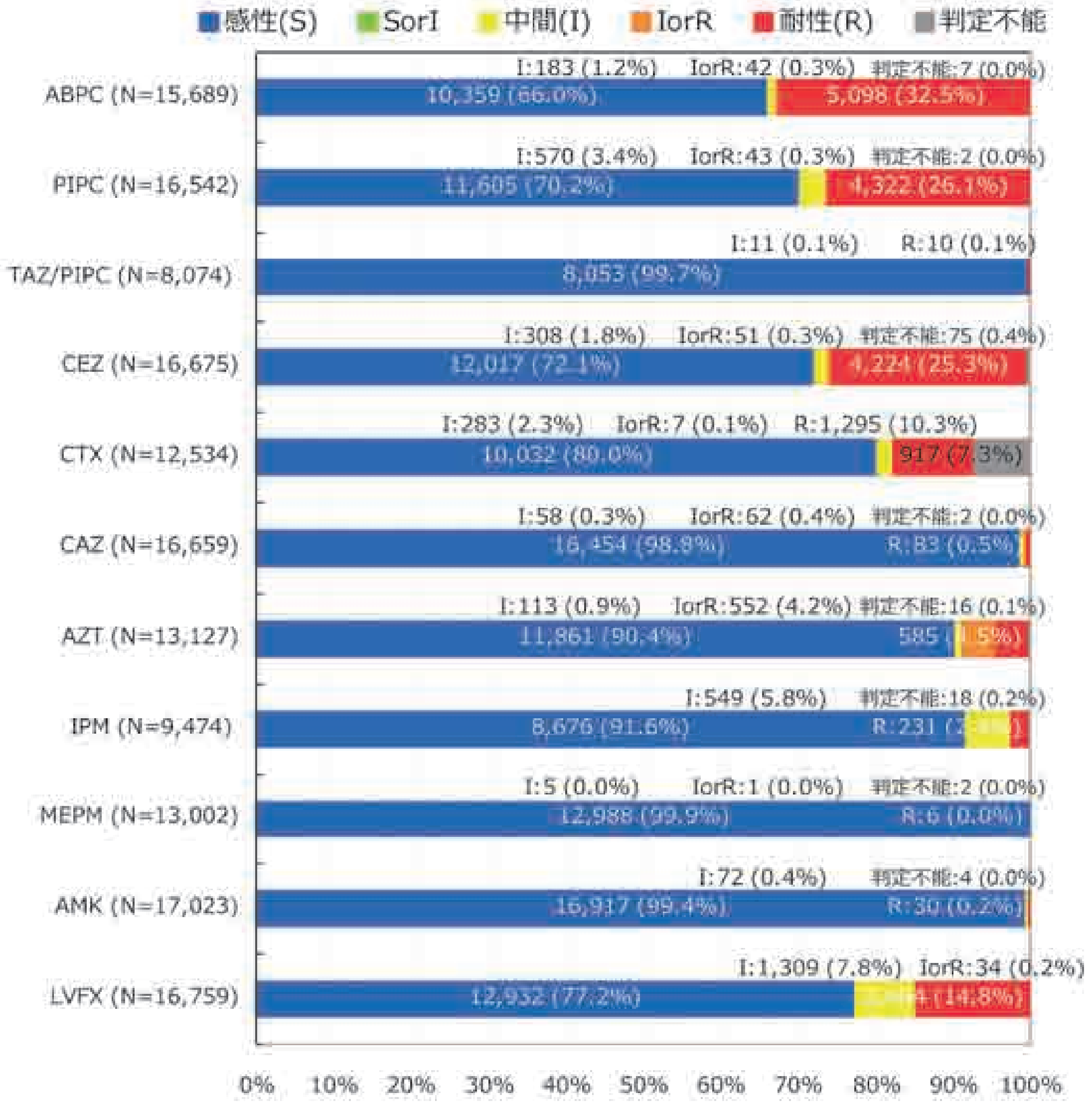
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠

†菌名コード：2052と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Proteus mirabilis†



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

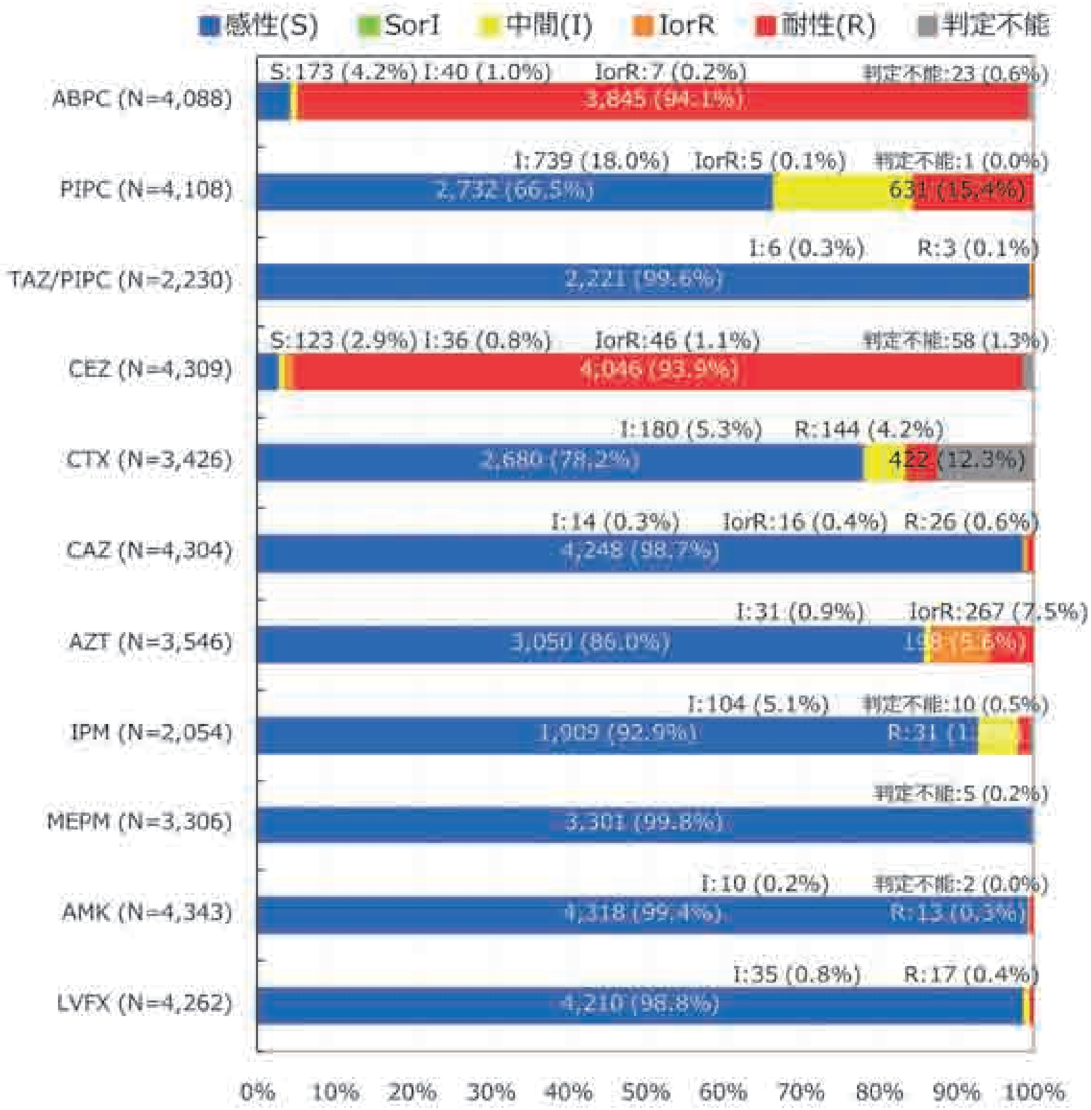
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠

†菌名コード：2201と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

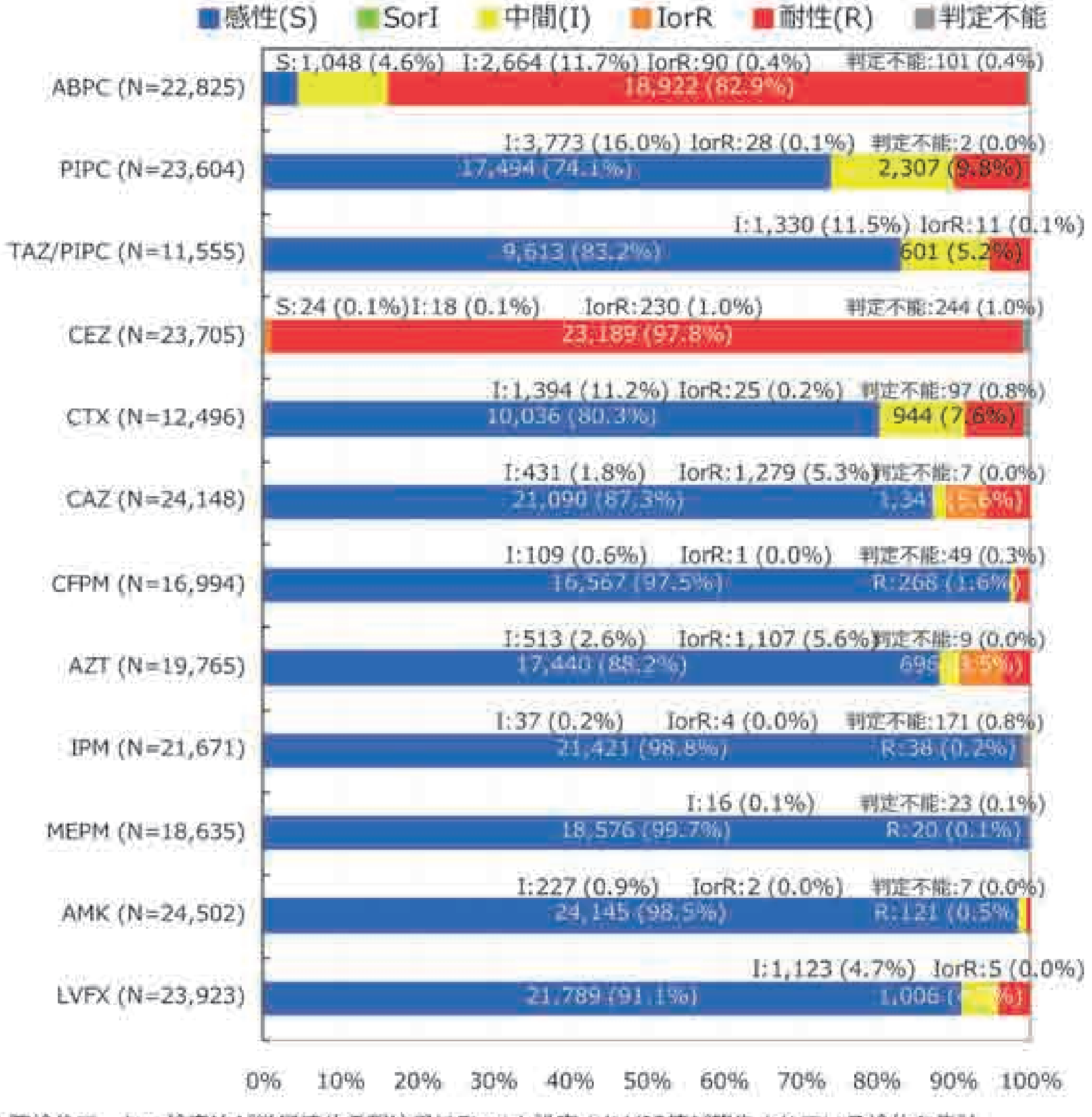
Proteus vulgaris †



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
*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：2202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

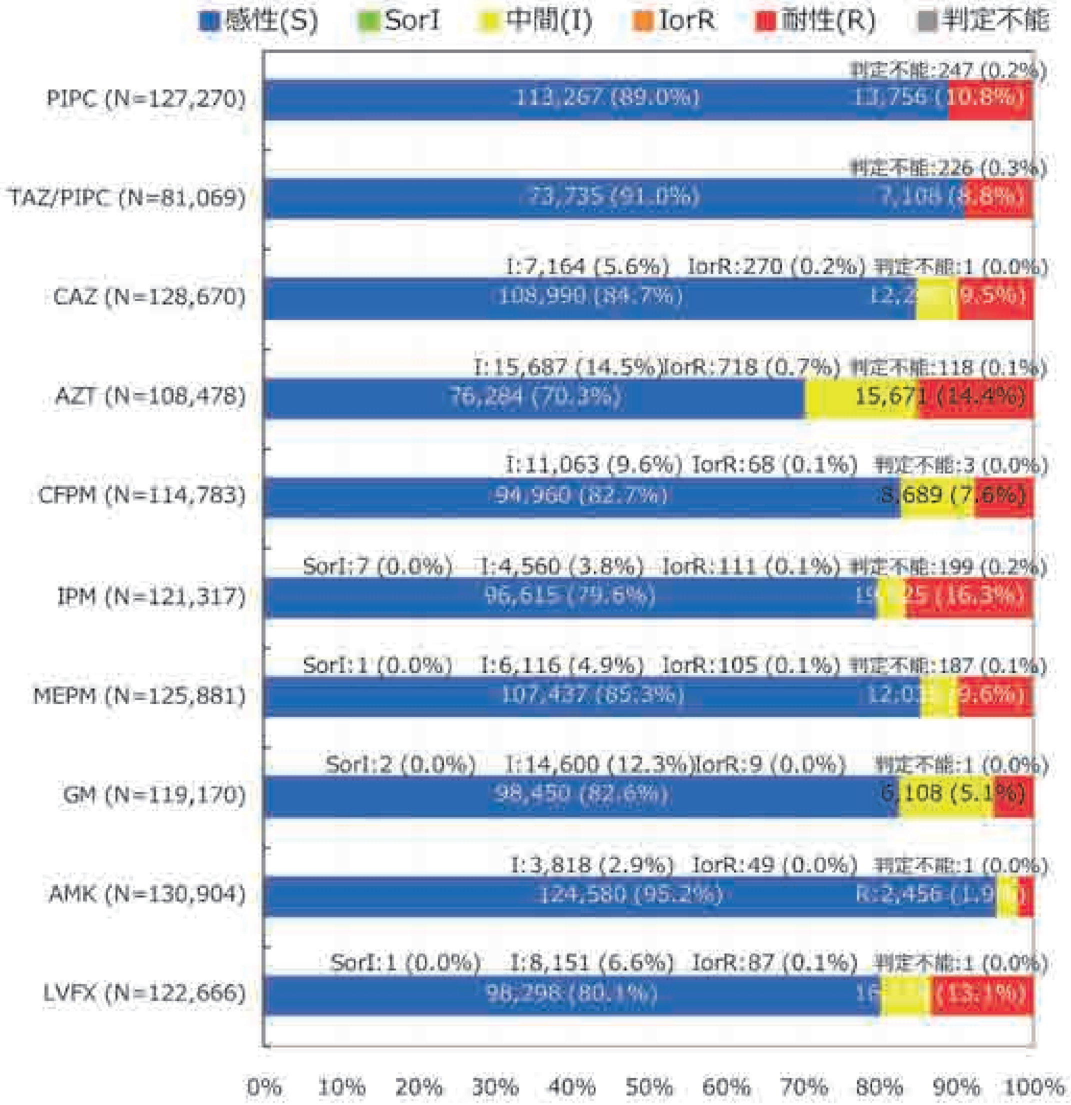
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠

†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

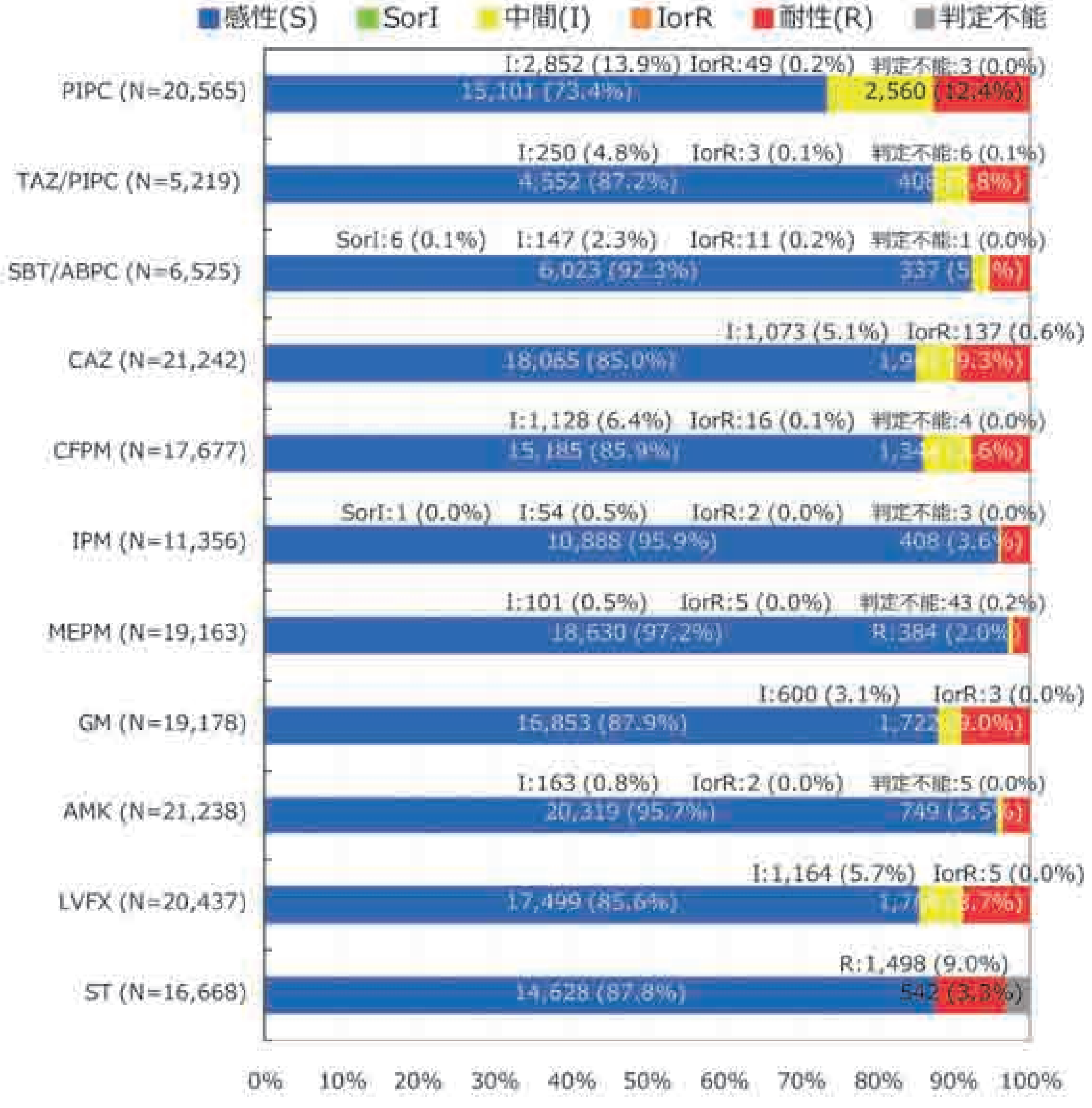
*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠

†菌名コード：4001と報告された菌

JANIS

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

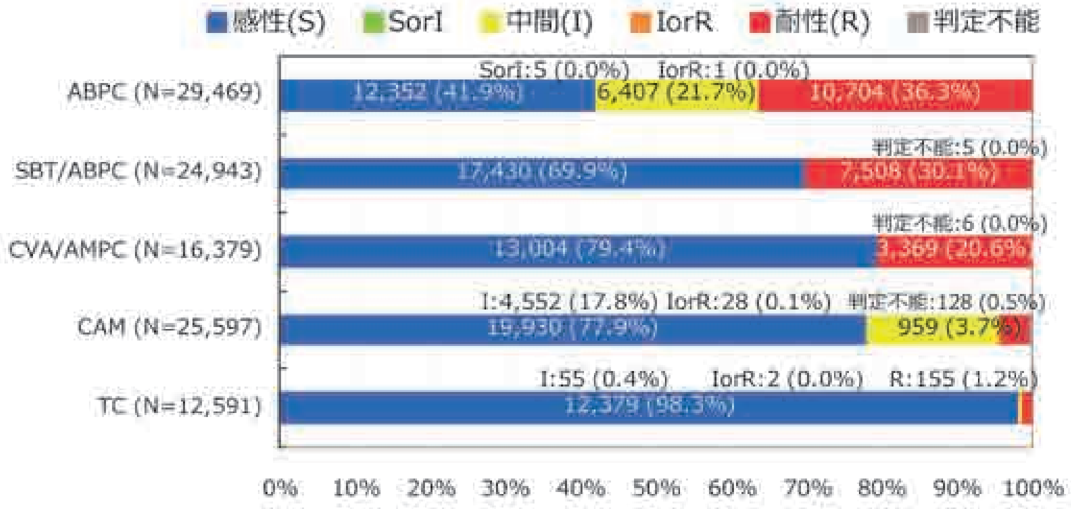
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

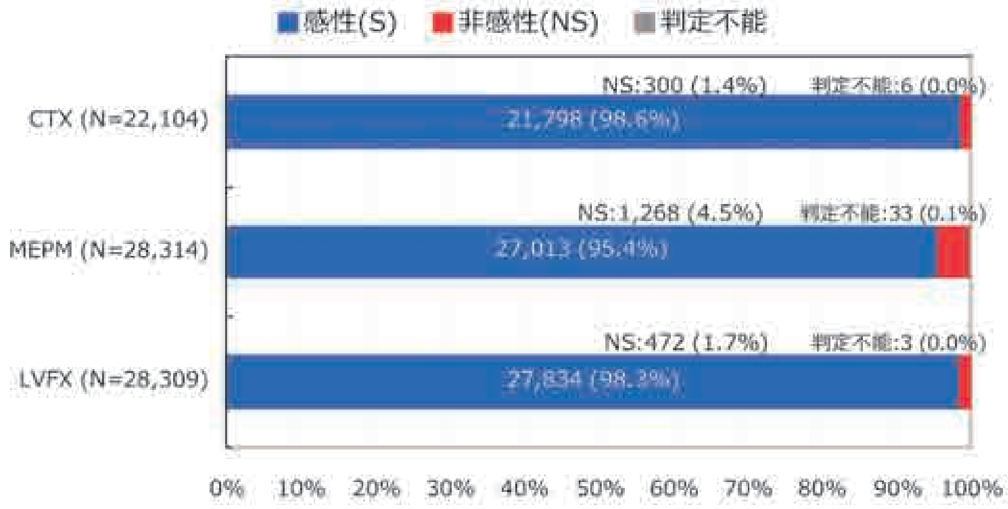
*S,I,Rの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠

†菌名コード：4400～4403と報告された菌

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Haemophilus influenzae†



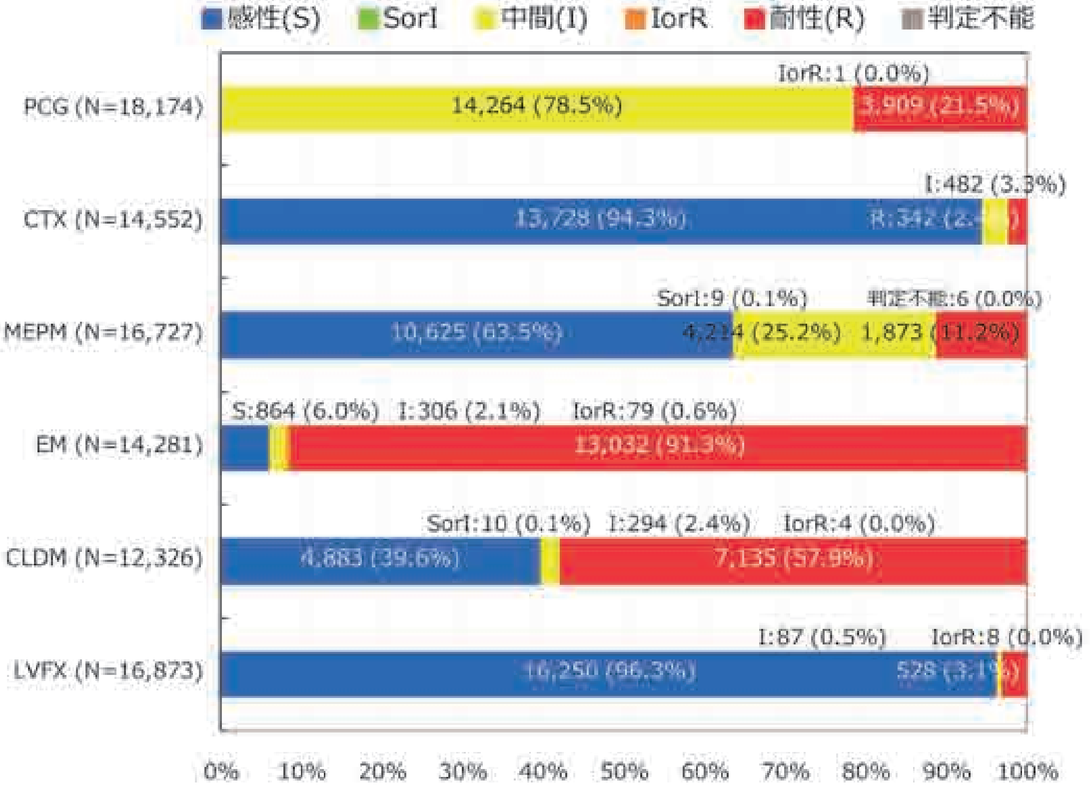


入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*S,I,RまたはS,NSの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠
†菌名コード：3201, 3202, 3203, 3205, 3208, 3211, 3214, 3217, 3220, 3223と報告された菌

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: 2015年06月10日
公開情報掲載日: 2015年10月26日

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP)(外来)†



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

*S,I,RまたはS,NSの判定はCLSI 2007（M100-S17）に準拠

†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

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： 2015年06月10日
公開情報掲載日： 2015年10月26日

【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 *Staphylococcus aureus* 又は選択培地で MRSA と確認された菌	MPIPC ≧4μg/ml	1301 1303
VRSA	VCM が微量液体希釈法で"R"の *S. aureus*	VCM ≧16μg/ml	1301,1303-1306
VRE	下記のいずれかの条件を満たす *Enterococcus* 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 *Enterococcus* sp.は除く	VCM ≧16μg/ml†	1201,1202,1205, 1206,1209,1210 、 1213-1217
PRSP	PCG が微量液体希釈法で耐性†の *Streptococcus pneumonia*	PCG ≧0.125μg/ml†	1131
MDRP	下記全てに該当する *Pseudomonas aeruginosa* 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 ≧16μg/ml、 MEPM ≧16μg/ml 2. AMK ≧32μg/ml† 3. NFLX ≧16μg/ml、 OFLX ≧8μg/ml、 LVFX ≧8μg/ml、 LFLX ≧8μg/ml、 GFLX ≧8μg/ml、 CPFX ≧4μg/ml	4001
MDRA¶	下記全てに該当する *Acinetobacter* 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 ≧16μg/ml、 MEPM ≧16μg/ml 2. AMK ≧32μg/ml† 3. LVFX ≧8μg/ml、 CPFX ≧4μg/ml、 GFLX ≧8μg/ml	4400-4403
カルバペネム耐性緑膿菌	IPM または MEPM が"R"の *P. aeruginosa*	IPM ≧16μg/ml、 MEPM ≧16μg/ml	4001
カルバペネム耐性セラチア	IPM または MEPM が"R"の *Serratia marcescens*	IPM ≧16μg/ml、 MEPM ≧16μg/ml	2101
第三世代セファロスポリン耐性肺炎桿菌	CTX が"I"か"R"又は CAZ が"R"の *Klebsiella pneumoniae*	CTX ≧16μg/ml CAZ ≧32μg/ml	2351
第三世代セファロスポリン耐性大腸菌	CTX が"I"か"R"、又は CAZ が"R"の *Escherichia coli*	CTX ≧16μg/ml CAZ ≧32μg/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 *E. coli*	NFLX ≧16μg/ml、 OFLX ≧8μg/ml、 LVFX ≧8μg/ml、 LFLX ≧8μg/ml、 GFLX ≧8μg/ml、 CPFX ≧4μg/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ター属

¶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 ≧16μg/ml 又は MEPM ≧16μg/ml ② AMK ≧64μg/ml ③ LVFX ≧8μg/ml 又は CPFX ≧4μg/ml	四半期報 2007 年 7-9 月～2010 年 10-12 月 年報 2007 年～2009 年
① IPM ≧16μg/ml 又は MEPM ≧16μg/ml ②AMK ≧32μg/ml ② LVFX ≧8μg/ml 又は CPFX ≧4μg/ml 又は GFLX ≧8μg/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

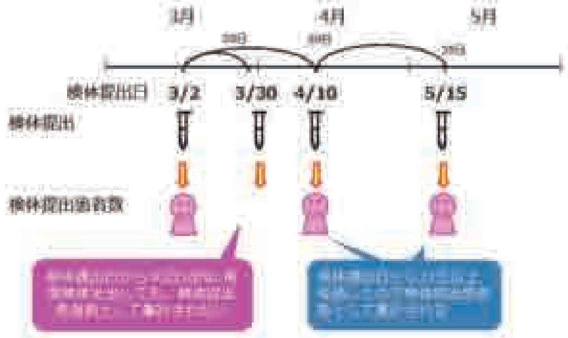
検体提出日の翌日を１日目とする。検体提出日が３月１日とすると，１日目が３月２日，30 日目が３月 31 日となる。

例）

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。

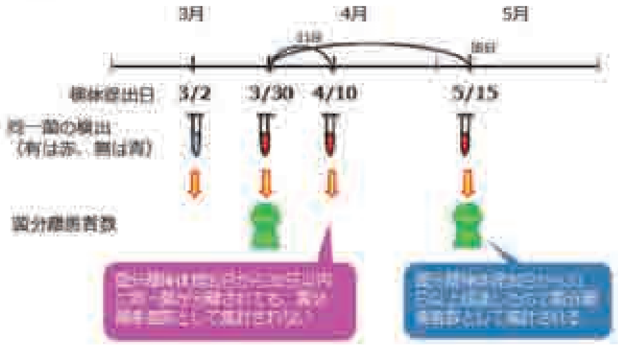
例）



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。

例）



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

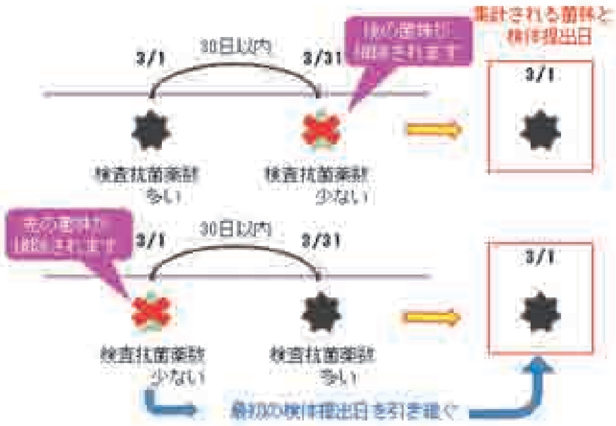
30 日以内に同一患者から同一菌が検出された場合であっても，検査抗菌薬感受性結果に１つ以上不一致（下記①～④のいずれかに該当）がある場合は異なる菌株として集計される。

① MIC 値に４倍以上の違いがある
ただし，MIC > 2 は MIC ≧ 4 と考え，判定時は MIC = 4 として扱う
また，MIC < 16 は MIC ≦ 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 日以内の）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が（30 日以内の）先の菌株の検査抗菌薬より多い場合，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。

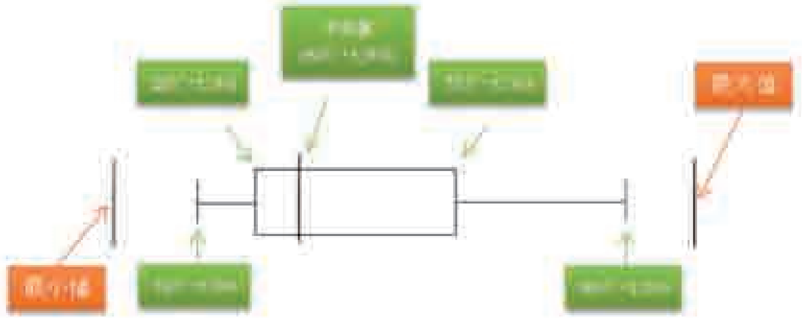
例）

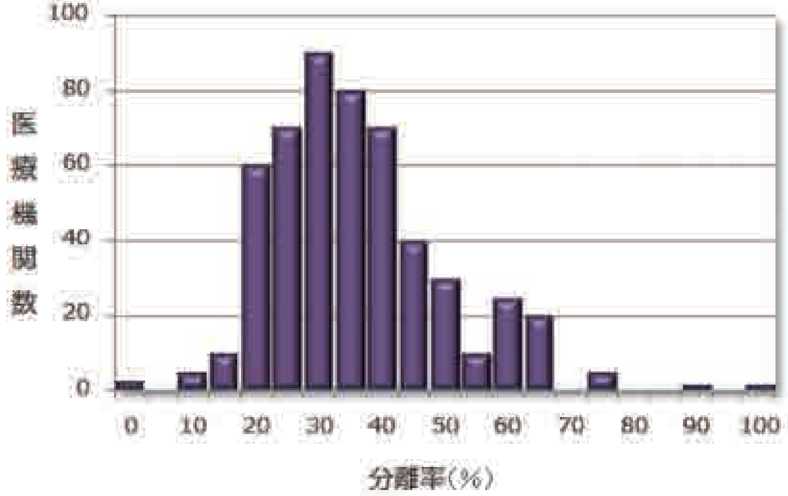


【巻末資料３　箱ひげ図について】

1.　箱ひげ図について

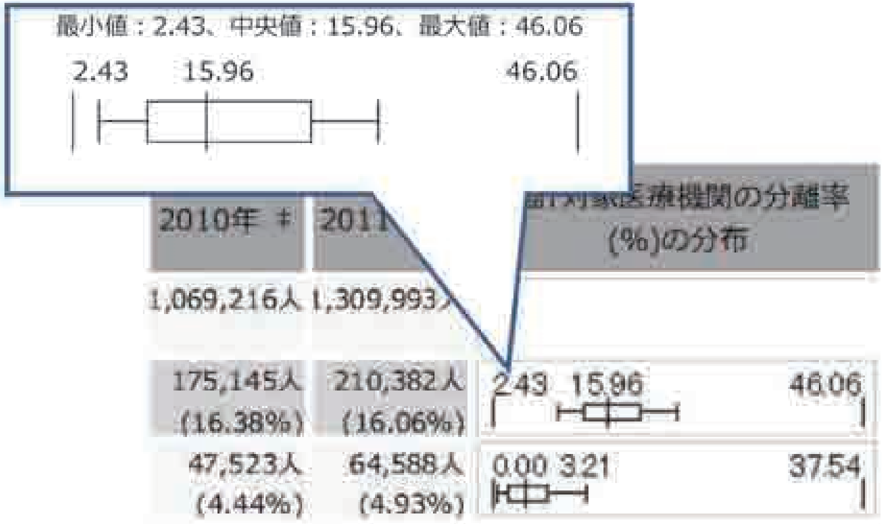
集計対象医療機関のデータのばらつきを示し、集計対象医療機関における自施設の位置を確認することができる。





※　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。
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。

2.　公開情報の箱ひげ図



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　……44
２．肺炎球菌 *Streptococcus pneumoniae* ……44
３．黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* ……46
４．腸球菌 *Enterococcus* spp. ……47
５．大腸菌 *Escherichia coli* ……48
６．肺炎桿菌 *Klebsiella pneumoniae* ……49
７．緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* ……50
８．アシネトバクター・バウマニ *Acinetobacter baumannii* ……50
９．おわりに　……51
引用文献　……52

１．はじめに

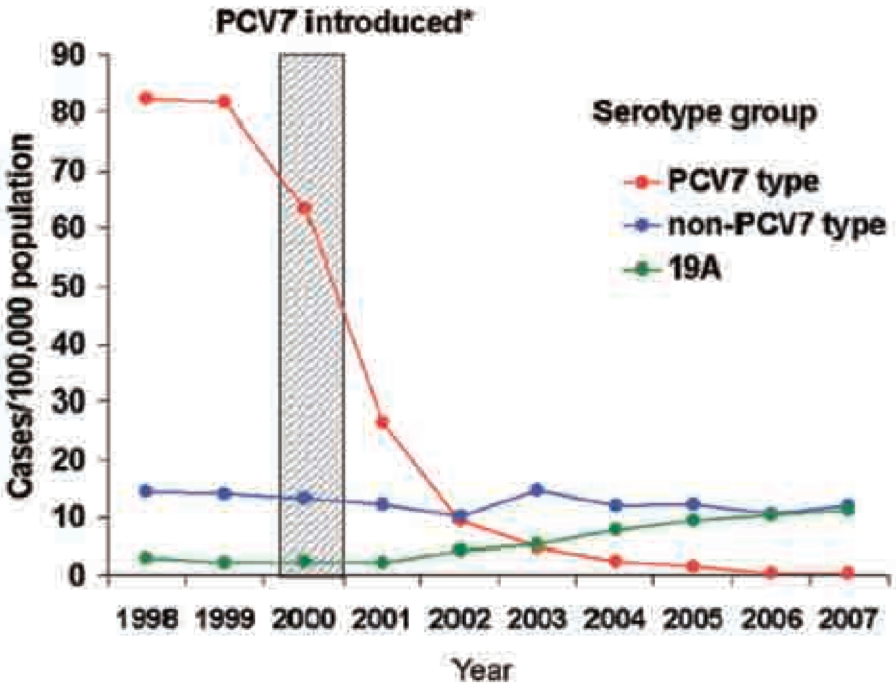
多剤耐性菌およびこれによる感染症は、複合的な要因（医療技術の高度化、ヒトおよび動物への抗菌薬の濫用、交通手段の発達、新規抗菌薬の枯渇など）により年々状況が悪化しており、現在では人類共通の課題として認識されつつある。これまで医療技術の革新をリードしてきた米国も例外ではなく、多剤耐性化した各種の病原菌が、病院、長期療養施設、そして市中に拡大している。ここでは、米国で問題となっている病原菌に焦点を当て、これらの疫学と感染症の予防、治療について紹介する。

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、



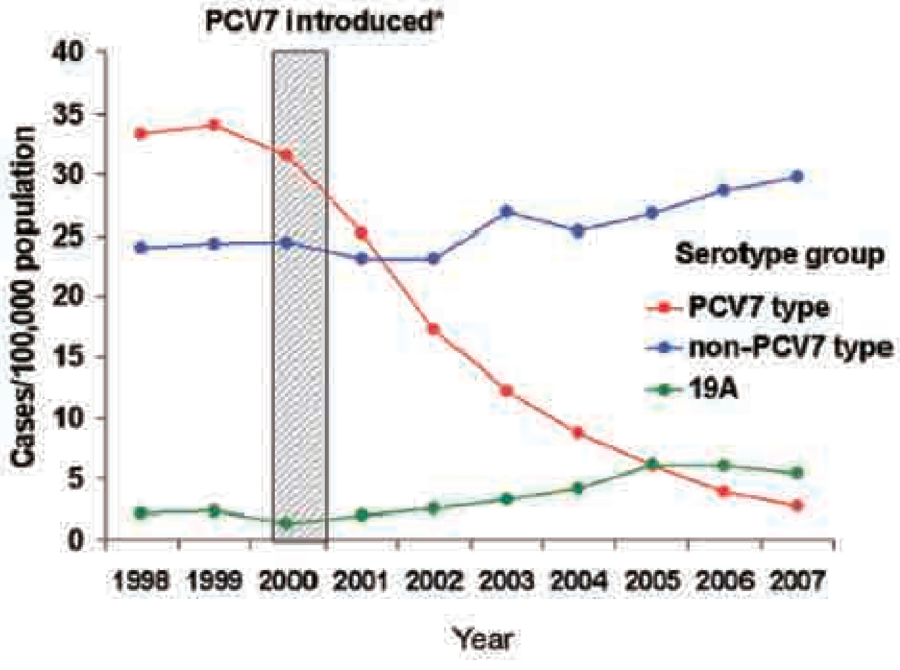


図１　侵襲性肺炎球菌感染症の発症率。５歳未満（上）と65歳以上（下）。引用文献[2]より抜粋。

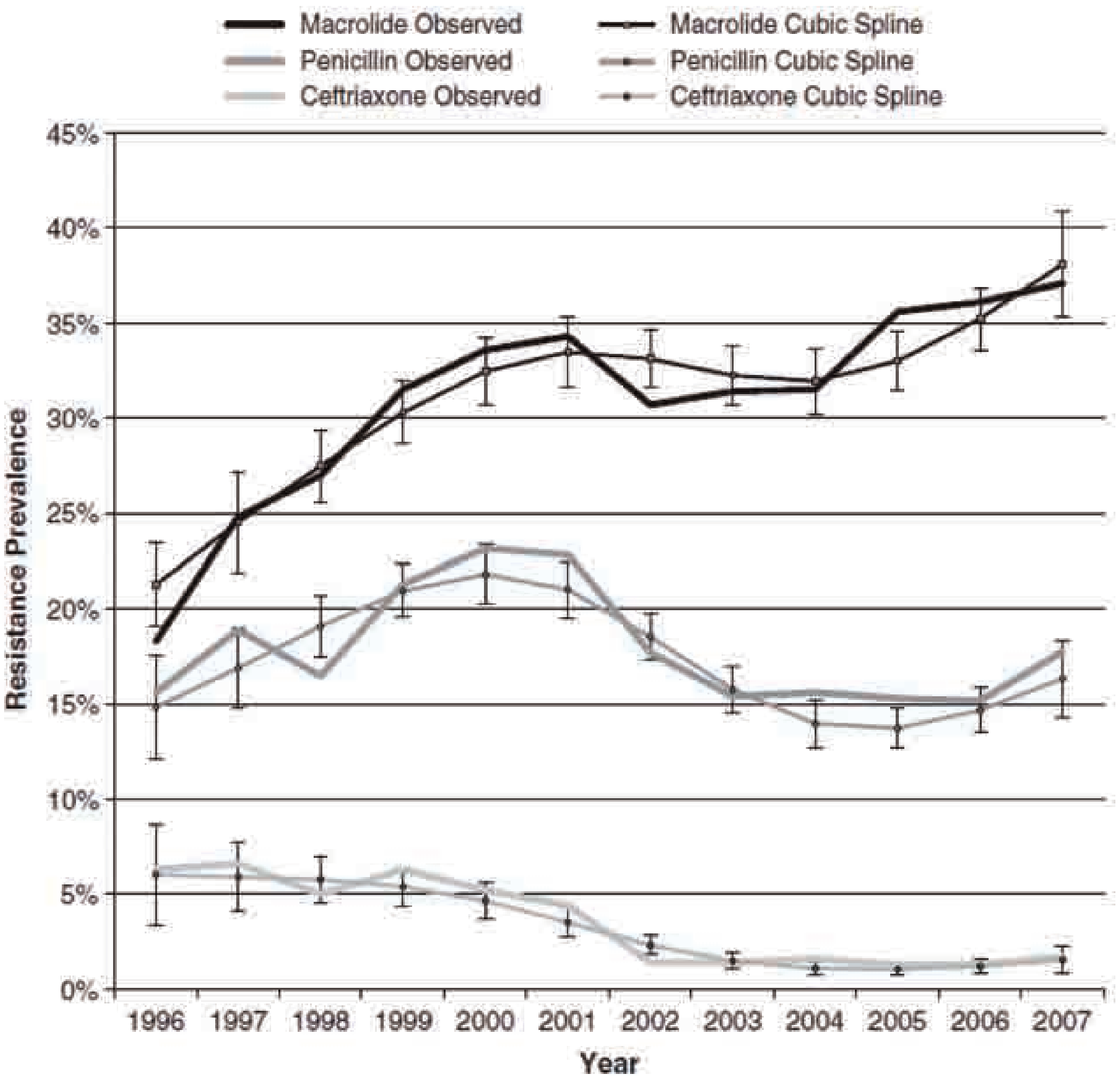


図２　米国における肺炎球菌の感受性年次推移。引用文献[3]より抜粋。

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比較的広い。

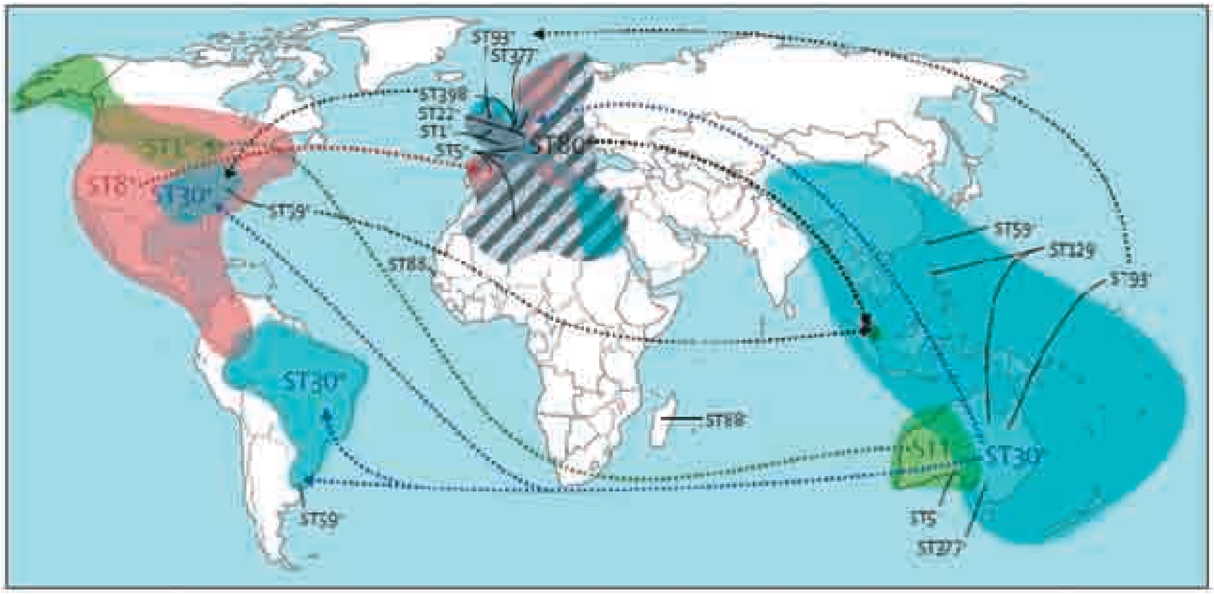


図３　市中感染型 MRSA の ST 型の分布。引用文献[5]より抜粋。

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、セフタロリンなどの代替薬に変更する。バンコマイシンの MIC が２mg/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

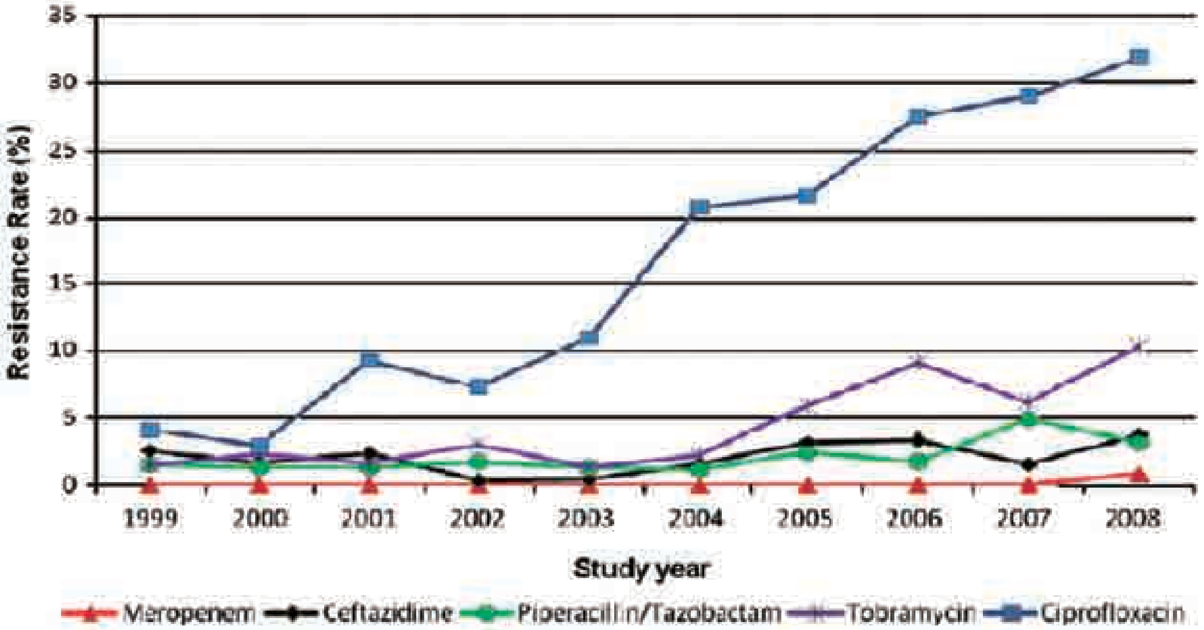


図４　米国の病院での大腸菌の薬剤耐性率の年次推移。引用文献[8]より抜粋。

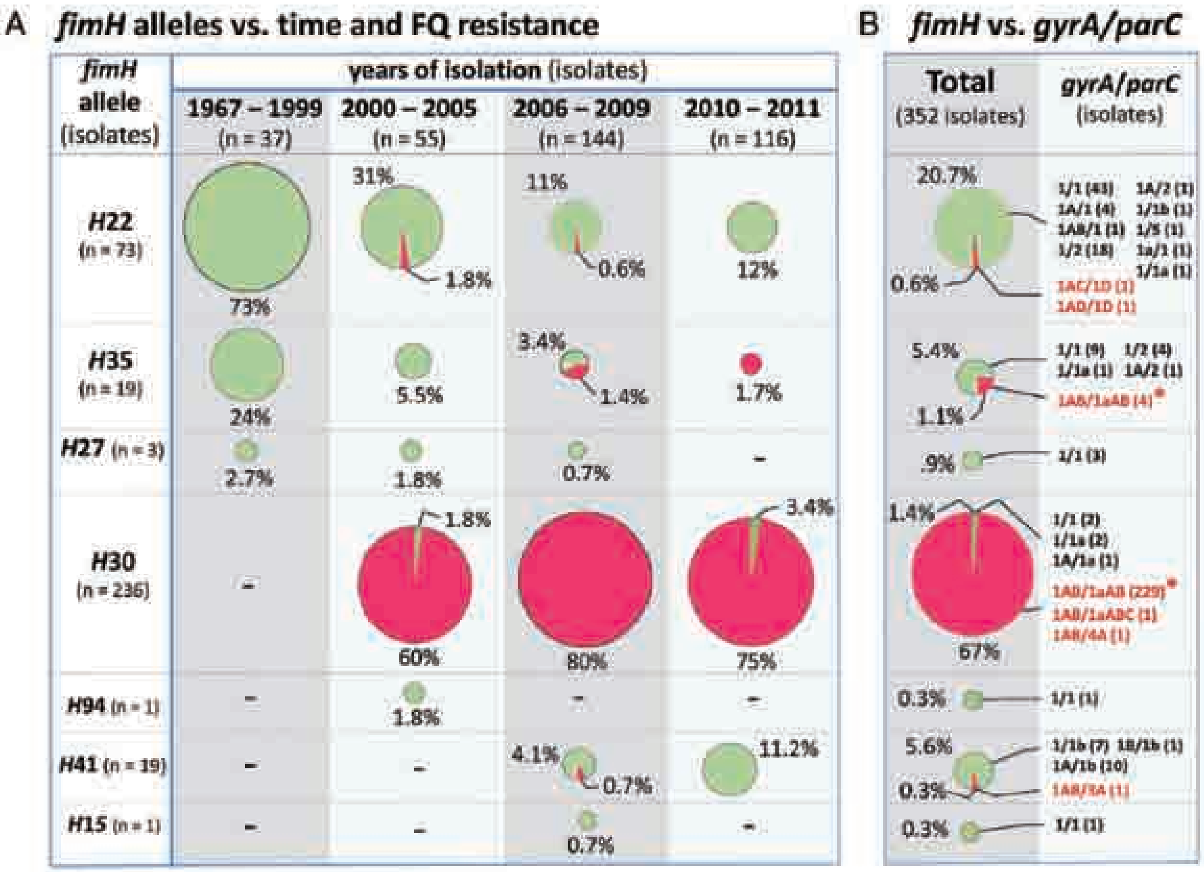


図５　米国で検出されたST131型大腸菌における*fimH*タイプとフルオロキノロン耐性率の年次推移。引用文献[9]より抜粋。

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、コリスチンの投与法についても薬物動態的検証が進んでおり、[14] これらのアプローチを組み合わせるこ

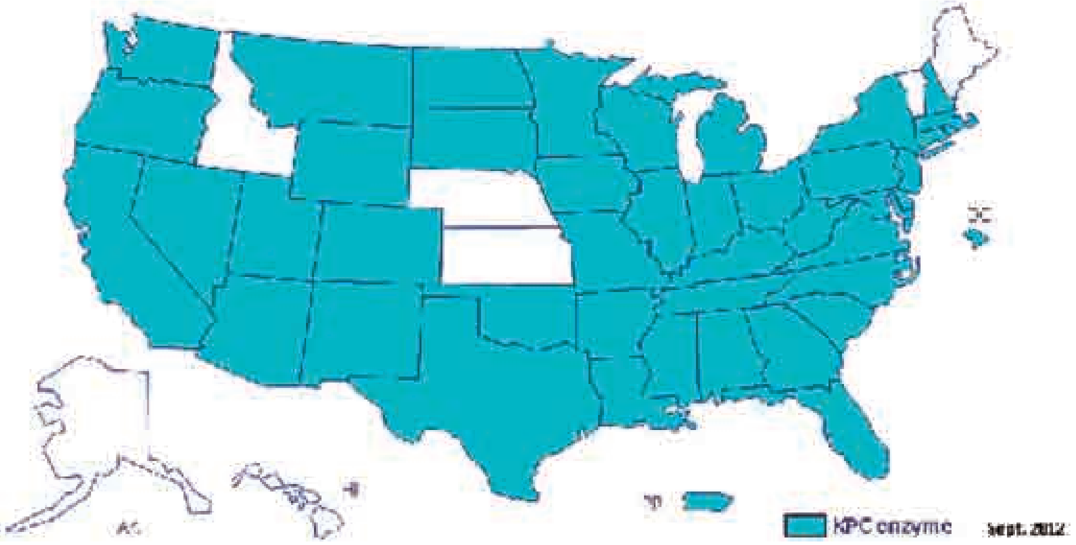


図６　これまでにカルバペネマーゼ産生腸内細菌が検出された州。CDC ウェブサイトより。
(http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/TrackingCRE.html)。

とで予後が改善されることが期待されている。尿路感染症の治療法についてはまだ知見が限られるが、当院の経験ではドキシサイクリン単剤での有効性が高いことが示されている。

７．緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa*

多剤耐性緑膿菌が米国で最も問題となるのは、嚢胞性線維症における慢性呼吸器感染症とその急性増悪で、これに医療関連感染症としての菌血症、院内肺炎が続く。逆に日本のように尿路感染症を生じることは極めて稀である。慢性感染の性質上、特定の耐性株が蔓延するというより、当初感染を起こした菌株が、長年に及ぶ抗菌薬の選択圧により（耐性因子の獲得よりは）突然変異により徐々に多剤耐性化していくというプロセスを経る。気道内に複数の菌株が共存する現象もよく見られる。ただ、全体として抗菌薬の感受性はこの数年安定しており、カルバペネム、ピペラシリン・タゾバクタムの耐性率は共に20-30％程度で、変化なしか、やや低下傾向にある。

治療に関しては、緑膿菌による侵襲性感染症の治療を（感性の保たれている）単剤で行うか、併用で行うかの論争が長く続いているが、少なくとも確定治療（感受性結果を反映しての治療）では、二剤併用（βラクタムとフルオロキノロン、またはβラクタムとアミノグリコシド）の有用性は示されていない。[15] したがって、抗緑膿菌活性のあるβラクタム単剤による治療（ピペラシリン・タゾバクタム、セフェピム、カルバペネムなど）が第一選択となっている。

８．アシネトバクター・バウマニ *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii はアシネトバクター属の中で最も医療関連感染症を起こす頻度が高く、また高い薬剤耐性を持つ菌種である。1980 年代に多剤耐性傾向が見られるようになり、1990 年代半ばからカルバペネム耐性を示すものが報告され始めた。３系統以上の抗菌薬に耐性で多剤耐性と定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

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).

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型が続く。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の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は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 meticillin-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.

グラム陰性菌の薬剤耐性

名古屋大学大学院医学系研究科
分子病原細菌学／耐性菌制御学分野
荒　川　宜　親

■内容

はじめに …55
1．多剤耐性アシネトバクター …55
a．多剤耐性アシネトバクターの定義 …55
ⅰ．感染症法に基づく届け出のための定義 …55
ⅱ．感染制御や感染症治療のための定義 …55
ⅲ．行政的に「定義」を定めた場合の弊害 …56
b．多剤耐性アシネトバクターの細菌学的特徴 …56
c．カルバペネム耐性機構 …57
d．フルオロキノロン耐性機構 …57
e．アミノ配糖体耐性機構 …57
2．メタロ - β - ラクタマーゼ産生グラム陰性桿菌 …57
a．NDM-1産生菌 …57
ⅰ．NDM-1を産生する菌種と NDM-1の変種 …57
ⅱ．NDM-1の遺伝子を担う伝達性 plasmid …58
ⅲ．NDM-1産生株の遺伝的特徴 …58
b．IMP- 型 MBL 産生菌 …58
c．その他の MBL 産生菌 …58
3．KPC 型カルバペネマーゼ産生菌 …58
4．OXA 型カルバペネマーゼ産生菌 …59
5．CTX-M- 型β - ラクタマーゼ産生菌 …59
a．CTX-M- 型β - ラクタマーゼ産生菌の特徴 …59
b．CTX-M- 型β - ラクタマーゼ産生菌の急増の背景 …60
6．AmpC- 型セファロスポリナーゼ産生株 …60
a．染色体性の AmpC 型セファロスポリナーゼ産生株 …60
b．CMY- 型、MOX- 型、DHA- 型などのプラスミド媒介性セファロスポリナーゼ産生株 …60
c．AmpC 型β - ラクタマーゼ産生株の簡便な検出法 …61
7．プラスミド媒介性キノロン耐性機構（PMQR）を獲得した株 …61
a．QnrA ～ D、QnrS 産生株 …61
b．AAC(6')-Ib-cr 産生株 …61
c．QepA 産生株 …61
8．アミノ配糖体修飾不活化酵素 …62

9．16S rRNA メチル化酵素産生株 ……………………………………………………………………62
おわりに ……………………………………………………………………………………………62
参考文献 ……………………………………………………………………………………………63

はじめに

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

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

１．多剤耐性アシネトバクター

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

ａ．多剤耐性アシネトバクターの定義

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

ｉ．感染症法に基づく届け出のための定義

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

ⅱ．感染制御や感染症治療のための定義

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

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

ⅲ．行政的に「定義」を定めた場合の弊害

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

ｂ．多剤耐性アシネトバクターの細菌学的特徴

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

の拭き取り試験で効率よく分離されると報告されている[3]。

c．カルバペネム耐性機構

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

d．フルオロキノロン耐性機構

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

e．アミノ配糖体耐性機構

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

2．メタロ-β-ラクタマーゼ産生グラム陰性桿菌

a．NDM-1産生菌

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

ｉ．NDM-1を産生する菌種とNDM-1の変種

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

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

ⅱ．NDM-1の遺伝子を担う伝達性 plasmid

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

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

ⅲ．NDM-1産生株の遺伝的特徴

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

ｂ．IMP-型 MBL 産生菌

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

ｃ．その他の MBL 産生菌

欧州では VIM-型の MBL を産生する緑膿菌やアシネトバクターなどが多く、IMP-型産生株は相対的に少ない。南米では SPM-1を産生する緑膿菌が多く分離されている。その他、GIM-1、SIM-1なども MBL 産生株もドイツや韓国等地域的に検出されている。プラスミド媒介性などの獲得型の MBL はこれまで、多くがサブクラスＢ１に属していたが、最近、サブクラスＢ３に属する新型の MBL（SMB-1）を産生する *Serratia marcescens* が、わが国において発見された(10)。注目すべきは、SMB-1は、NDM-1よりカルバペネムを分解する活性が高いという特徴を示す点である。

３．KPC 型カルバペネマーゼ産生菌

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

oxytoca の染色体性β - ラクタマーゼに近いという特徴を示す。

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

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

４．OXA 型カルバペネマーゼ産生菌

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

５．CTX-M- 型β - ラクタマーゼ産生菌

ａ．CTX-M- 型β - ラクタマーゼ産生菌の特徴

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

b．CTX-M- 型 β - ラクタマーゼ産生菌の急増の背景

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

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

６．AmpC- 型セファロスポリナーゼ産生株

a．染色体性の AmpC 型セファロスポリナーゼ産生株

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

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

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

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

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

c．AmpC 型β - ラクタマーゼ産生株の簡便な検出法

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

7．プラスミド媒介性キノロン耐性機構（PMQR）を獲得した株

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

a．QnrA ～ D、QnrS 産生株

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

b．AAC(6')-Ib-cr 産生株

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

c．QepA 産生株

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

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

8．アミノ配糖体修飾不活化酵素

アミノ配糖体耐性の主たる分子機構は、アミノ配糖体修飾不活化酵素の産生である。具体的には、アミノ配糖体アセチル化酵素（AAC）、アミノ配糖体リン酸化酵素（APH）、アミノ配糖体アデニリル化酵素（AAD）である。AACは、アミノ配糖体の-NH２基にアセチル基を付加する酵素であり、APHは、アミノ配糖体の-OH基にリン酸基を付加する酵素である。AADは、アミノ配糖体の-OH基にヌクレオチドであるアデニリル基を結合させるためアミノ配糖体ヌクレオチジルトランスフェラーゼ（ANT）とも記述されることがあるが、両者は同じ酵素であり、AAD/ANTと記載される場合もある。多くは伝達性プラスミドに依存して産生されるが、*Acinetobacter*属菌などでは、染色体上にこれらの酵素の遺伝子がintegrateした株も多い。

9．16S rRNAメチル化酵素産生株

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

おわりに

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

参考文献

1. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! Trends Mol Med. 2012 May; 18(5): 263-72.
2. Bartual SG, Seifert H, Hippler C, Luzon MA, Wisplinghoff H, Rodríguez-Valera F. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol. 2005 Sep; 43(9): 4382-90.
3. Doi Y, Onuoha EO, Adams-Haduch JM, Pakstis DL, McGaha TL, Werner CA, Parker BN, Brooks MM, Shutt KA, Pasculle AW, Muto CA, Harrison LH. Screening for *Acinetobacter baumannii* colonization by use of sponges.J Clin Microbiol. 2011 Jan; 49(1): 154-8.
4. Yu YS, Zhou H, Yang Q, Chen YG, Li LJ. Widespread occurrence of aminoglycoside resistance due to ArmA methylase in imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in China. J Antimicrob Chemother. 2007 Aug; 60(2): 454-5.
5. Doi Y, Adams JM, Yamane K, Paterson DL. Identification of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* clinical strains in North America. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Nov; 51(11): 4209-10.
6. Sekizuka T, Matsui M, Yamane K, Takeuchi F, Ohnishi M, Hishinuma A, Arakawa Y, Kuroda M. Complete sequencing of the $bla_{NDM\text{-}1}$-positive IncA/C plasmid from *Escherichia coli* ST38 isolate suggests a possible origin from plant pathogens. PLoS One. 2011; 6(9): e25334.
7. Giske CG, Fröding I, Hasan CM, Turlej-Rogacka A, Toleman M, Livermore D, Woodford N, Walsh TR. Diverse sequence types of *Klebsiella pneumoniae* contribute to the dissemination of $bla_{NDM\text{-}1}$ in India, Sweden, and the United Kingdom. Antimicrob Agents Chemother. 2012 May; 56(5): 2735-8.
8. Mushtaq S, Irfan S, Sarma JB, Doumith M, Pike R, Pitout J, Livermore DM, Woodford N. Phylogenetic diversity of *Escherichia coli* strains producing NDM-type carbapenemases. J Antimicrob Chemother. 2011 Sep; 66(9): 2002-5.
9. Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, Yoshimura F, Kato N. Molecular characterization of an enterobacterial metallo β-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. Antimicrob Agents Chemother. 1994 Jan; 38(1): 71-8.
10. Wachino J, Yoshida H, Yamane K, Suzuki S, Matsui M, Yamagishi T, Tsutsui A, Konda T, Shibayama K, Arakawa Y. SMB-1, a novel subclass B3 metallo-β-lactamase, associated with IS*CR1* and a class 1 integron, from a carbapenem-resistant *Serratia marcescens* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Nov; 55(11): 5143-9.
11. Villegas MV, Lolans K, Correa A, Kattan JN, Lopez JA, Quinn JP; Colombian Nosocomial Resistance Study Group. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing β-lactamase. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Apr; 51(4): 1553-5.
12. Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Miriagou V, Naas T, Rossolini GM, Samuelsen Ø, Seifert H, Woodford N, Nordmann P; European Network on Carbapenemases. Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. Clin Microbiol Infect. 2012 May; 18(5): 413-31.
13. Suzuki S, Shibata N, Yamane K, Wachino J, Ito K, Arakawa Y. Change in the prevalence of extended-spectrum-β-lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. J Antimicrob Chemother. 2009 Jan; 63(1): 72-9.
14. Doi Y, Shibata N, Shibayama K, Kamachi K, Kurokawa H, Yokoyama K, Yagi T, Arakawa Y. Characterization of a novel plasmid-mediated cephalosporinase (CMY-9) and its genetic environment in an *Escherichia coli* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother. 2002 Aug; 46(8): 2427-34.
15. Yagi T, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Doi Y, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Arakawa Y. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C β-lactamase-

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

新型の多剤耐性グラム陰性桿菌の特徴と主な薬剤耐性機構

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

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

多剤耐性緑膿菌（MDRP）と多剤耐性アシネトバクター（MDRA）の現状と分子疫学

独立行政法人　国立国際医療研究センター研究所　感染症制御研究部

切　替　照　雄

■内容

１．はじめに ……67
２．MDRP の現状と分子疫学 ……68
　ａ．緑膿菌とは ……68
　ｂ．MDRP の定義 ……68
　ｃ．分離状況 ……69
　ｄ．多発事例 ……69
　ｅ．分子疫学 ……70
　ｆ．高度多剤耐性緑膿菌臨床分離株のゲノム特性 ……71
３．MDRA の現状と分子疫学 ……72
　ａ．アシネトバクターとは ……72
　ｂ．MDRA の定義 ……72
　ｃ．分離状況及び多発事例 ……73
　ｄ．分子疫学 ……73
参考文献 ……76

１．はじめに

多剤耐性緑膿菌（MDRP: multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*）の分離報告及び院内感染事例が、特に2000年以降、我が国の各地の医療施設において多数報告されるようになってきた。一方、多剤耐性アシネトバクター（MDRA: multidrug-resistant *Acinetobacter* spp）の場合、我が国における分離報告は MDRP と比較すると稀であるが、特に海外から持ち込まれたと推定される菌株による多発事例が報告されるようになってきた。MDRP および MDRA はカルバペネム、ニューキノロン、アミノグリコシドに耐性を示し、治療が極めて困難であると共に、個々の施設内での伝播を引き起こす。施設を超えて広域に伝播拡大していくことも懸念されている。

緑膿菌はグラム陰性桿菌で、水、下水、汚水や土壌、ヒトを含む動物の消化管に広く存在する。栄養要求性が低く、栄養分をほとんど含まない水のなかでも発育する。1882年、緑膿菌は緑に着色した包帯からはじめて分離さて以来、ブドウ球菌とともに最も重要な院内感染起因菌と考えられている。一方、アシネトバクター属菌は、環境中に普遍的に見られる菌種であり、土壌

などから分離される。乾燥、温度変化に強く、長期にわたって生存でき、特に2000年以降、多剤耐性アシネトバクター・バウマニーは欧米やアジア諸国の医療施設において院内感染起因菌として問題となっている。

MDRP や MDRA は、感染制御のうえでは通常の緑膿菌やアシネトバクターとは全く異なる病原体である。これはメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）と黄色ブドウ球菌（MSSA)、あるいはバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）と腸球菌がそれぞれ同一の種に属する細菌でありながら、治療や院内感染対策では異なる病原体として扱われているのと同じである。MDRP、特にカルバペネム、ニューキノロン及びアミカシンに対し最小阻止濃度が64mg/ L を超えるような高度多剤耐性緑膿菌株が我が国の医療施設内で新興しはじめている。一方、十数施設ではあるが、同様な高度 MDRA が分離、報告されるようになってきた。

２．MDRP の現状と分子疫学

ａ．緑膿菌とは

1882年、フランスの軍病院の薬剤師 Carle Gessard が２人の患者の皮膚創部で包帯を青緑色に染める膿から分離することに成功した。その後、この菌は緑膿菌と名付けられた。以来、緑膿菌は院内感染起因菌として最も重要な菌種として、常にブドウ球菌と比較されてきた。

緑膿菌はグラム陰性の桿菌で、端在性の鞭毛を持つ。アシネトバクター属などと共に、臨床検査上、糖を酸化的に分解し、嫌気性的には分解しないので、ブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌と総称されている。

ブドウ球菌との違いを２つあげる。ひとつは、ブドウ球菌がグラム陽性細菌であるのに対し、緑膿菌はグラム陰性細菌である。グラム陰性細菌の特徴は細胞壁成分のひとつとしてリポポリサッカライド（LPS：エンドトキシン）をもっていることである。グラム陰性細菌が一旦血中に入ると、菌体から LPS が遊離し、敗血症ショック（エンドトキシンショック）を引き起こす。この場合の致死率は極めて高い。

もう一つのブドウ球菌との違いは、生息場所とその感染伝播様式である。ブドウ球菌は主にヒトの皮膚や鼻咽頭粘膜に常在するのに対し、緑膿菌はヒトの消化管などに常在しているとともに、湿潤な自然環境中に広く分布している。院内での感染伝播様式は、ブドウ球菌では基本的にヒトからヒトへの感染伝播である。医療器具、感染者が接触した環境表面が介在する場合もある。なお、ブドウ球菌は食中毒の原因ともなる。この場合は、ヒトから伝播したブドウ球菌が食品内で毒素を産生することによる。緑膿菌に関しては、おもに２つの感染経路がある。ひとつは、内因性感染で白血病や悪性腫瘍などで抗癌剤治療中の患者におきる敗血症などにみられる。もう一つは、外因性感染で留置カテーテル、熱傷治療、呼吸管理などでみられる。この場合、環境中の緑膿菌が感染源となる。いずれの場合も通常の緑膿菌は、様々な株（クローン）からなっている。

ｂ．MDRP の定義

日本では感染症法でカルバペネム、アミノグリコシド、フルオロキノロンの３系統の抗菌薬に耐性を獲得した多剤耐性緑膿菌による感染症を「薬剤耐性緑膿菌感染症」と定義し、５類感染症定点把握疾患に定められている。検査室での判定基準は厚生労働省院内感染対策サーベイランス

（JANIS）のホームページ（http://www.nih-janis.jp/index.asp）に明確にされている。国際的学術論文にもこの定義を記載すれば、MDRP に関する報告ができる。当面の MDRP の監視には、この基準を使用すれば問題はないが、将来 MDRP の進化や使用薬剤の変化に応じて、見直しが必要になるだろう。特に使用薬剤の選定、MIC 値などは、薬剤耐性の機序なども考慮して、標的とすべき MDRP を絞り込めるような定義の設定が望まれる。

JANIS の定義はあくまでも感染症法に基づく届け出のための定義である。日常的な感染制御や治療のための定義としては、例えば、２系統耐性緑膿菌や高度カルバペネム耐性を付与するメタロ - β - ラクタマーゼ産生緑膿菌、さらにはアミノグリコシド高度耐性を付与する16S rRNA メチラーゼ産生緑膿菌などを含める必要がある。

ｃ．分離状況

2012年の JANIS の報告によると、MDRP が分離された医療機関は53.2％、検体を提出した患者数の0.14％が多剤耐性緑膿菌であった。2000年以降、我が国の医療施設から MDRP の分離報告及び院内感染報告がなされるようになり、2006年のデータでは分離される緑膿菌のうち約2.5％が MDRP であった。さらにこれらの薬剤に対し最小阻止濃度が64mg/L を超えるような高度多剤耐性緑膿菌株が個々の施設内での伝播、さらに施設を超えて地域の医療施設間で伝播拡大していることが分かってきた[1)]。

ｄ．多発事例

MDRP は医療施設内で多発事例として分離されることが多い。特に我が国で分離される MDRP 株の特徴は、カルバペネム、ニューキノロン、アミカシンに対し最小阻止濃度が64mg/ L を超えるような高度 MDRP 株が高頻度に分離されることである（表１）。このような高度 MDRP

表１

MDRPの薬剤感受性試験

	MDRP(214株)			非MDRP(70株)		
	% Resistant	MIC_{50} (μg/ml)	MIC_{90} (μg/ml)	% Resistant	MIC_{50} (μg/ml)	MIC_{90} (μg/ml)
RIP	100	>512	>512	41.4	64	512
TZP	100	512	>512	21.4	32	128
CAZ	100	>512	>512	25.7	8	64
IPM	100	256	512	47.1	8	32
DRPM	99.1	>512	>512	34.3	8	32
MEM	100	512	>512	44.3	4	32
AZT	99.5	128	128	52.9	32	64
ABK	91.6	4	8	24.3	1	8
AMK	100	128	256	2.9	2	16
GEN	57.5	16	16	12.9	1	16
STR	100	>512	>512	98.6	32	128
CIP	100	64	>128	51.4	4	64
OFX	100	>128	>128	62.9	16	>128
PL-B	28.0	2	4	22.9	2	4

感染症は治療が極めて困難であると共に、個々の施設内での多発事例を、さらに施設間での伝播を引き起こす。

このような高度 MDRP 株による初めての報告は、2002年、宮城県にある総合病院の外科病棟での MDRP による多発事例であった。５ヶ月間に７名の入院患者が次々に尿留置カテーテル感染を罹った。原因となったのは、表１に感受性パターンを示すように、ほとんどの抗緑膿菌薬に高度耐性を示す MDRP 株であった。パルスフィールドゲル電気泳動法によって、それぞれの起因菌を調べると、すべて全く同一の泳動パターンであった。原因となったこの菌の薬剤耐性遺伝子の詳細を調べた結果、カルバペネム等の耐性に関与するメタロ - β - ラクタマーゼ遺伝子 *bla*$_{IMP-1}$に加えて新規アミノグリコシド耐性遺伝子（アミノグリコシドアセチルトランスフェラーゼ *aac(6')-Iae* をもっていることなどがわかった。

そこでこれと同じような菌株がこの病院の周辺地域の病院でも分離されているのかどうかをその後１年かけて調査した。その結果、調査に参加した20医療施設のうち11施設で MDRP が分離された。これらすべての株のパルスフィールドゲル電気泳動の結果を図１に示す。一見して明らかなように、ほとんどすべての MDRP が同一の泳動パターンを示した。この結果は感染対策のうえで大変重要な意味を持っている。即ち、ある特定の MDRP 株が病院内で院内感染起因菌としてヒトからヒトへ伝播している。しかもひとつの病院を超えて、他施設へも拡大していることが明らかとなった。おそらく患者等の移動に伴って、施設間の伝播がおきていたのだろう。この地域的な MDRP 多発事例は、幸いこの地域にすでに存在していた感染制御ネットワークフォーラムの様々な感染対策プログラムによって収束に向かいつつある。

このように施設を超えて地域の医療施設間で伝播拡大していることが、宮城県以外でも、広島県や関東地方などの地域でも報告されており、特定の高度 MDRP 株が全国の医療施設に伝播拡大されていることが危惧されている。

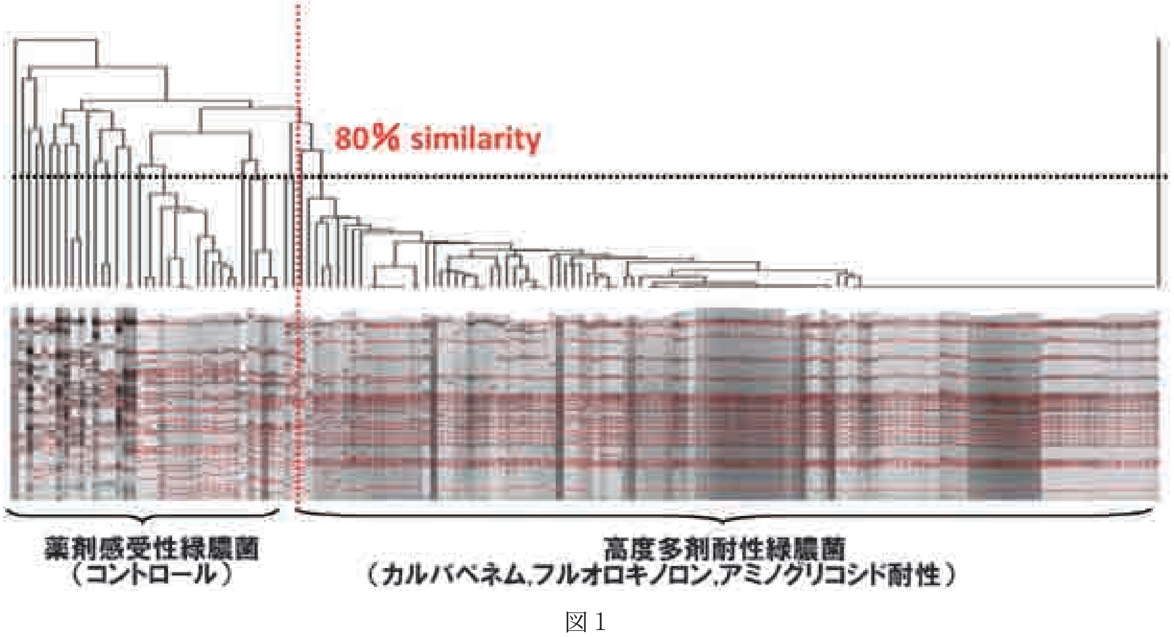


図１

ｅ．分子疫学

分子疫学解析で主流となっている手法に multilocus sequence typing（MLST）がある。緑膿菌の MLST は Curran らが開発した方法が良く用いられる（http://pubmlst.org/paeruginosa/）。

緑膿菌のMLSTは代謝機能等をつかさどり、菌の生存に必須の7つのハウスキーピング遺伝子(*acs, aro, gua, mut, nuo, pps, trp*)の塩基配列を比較するものである。これまでの分子疫学の手法は、パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE法）が主流であった。PFGE法は現在でも多発事例解析には有効な方法である。MLST法の最大の特長は，世界中の異なった地域の検査室の配列データが比較可能なことである。これによって、緑膿菌ST235（sequence type 235）等の世界流行株が存在することが明らかとなった[2]。緑膿菌ST235臨床分離株は世界中各国で分離されているが、特に日本、韓国、中国およびヨーロッパ諸国で数多く報告されている[3-4]。

一般的に、緑膿菌は、薬剤耐性因子をプラスミドによって獲得することが知られている。しかし、現在日本の医療機関で問題となっている高度多剤耐性緑膿菌株では、主要な薬剤耐性遺伝子がプラスミドではなくゲノム上に存在し、同じような遺伝子バックグラウンドを有する菌株が医療機関で伝播拡大していると考えられる。

ｆ．高度多剤耐性緑膿菌臨床分離株のゲノム特性

日本で広く分離されるMDRPの多くはカルバペネム等の耐性に関与するメタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子bla_{IMP-1}およびアミノグリコシド耐性遺伝子*aac(6')-Iae*をもつ。これらの遺伝子は、ゲノムに存在するインテグロンと呼ばれる遺伝子構造上に存在することが明らかとなった（図２）[4]。

日本の流行株であるNCGM2.S1株の全ゲノムの大きさは6,764,611bp、GCコンテンツは66.1%、6,271個のタンパクをコードする遺伝子を含み、染色体中に６つのプロファージエレメントを有していた。NCGM2.S1はプラスミドを保有しておらず、薬剤耐性因子は全て染色体上に存在していた。染色体上にはNCGM2.S1株に高度多剤耐性を付与するbla_{IMP-1}および*aac(6´)-Iae*を含むクラス１インテグロンIn113が存在していた。さらに、In113はカルバペネム系薬に対する排出ポンプOprDをコードする遺伝子中に挿入され、OprDの機能を完全に破壊することでより高いカルバペネム耐性を獲得していることが分かった（図３）[5]。

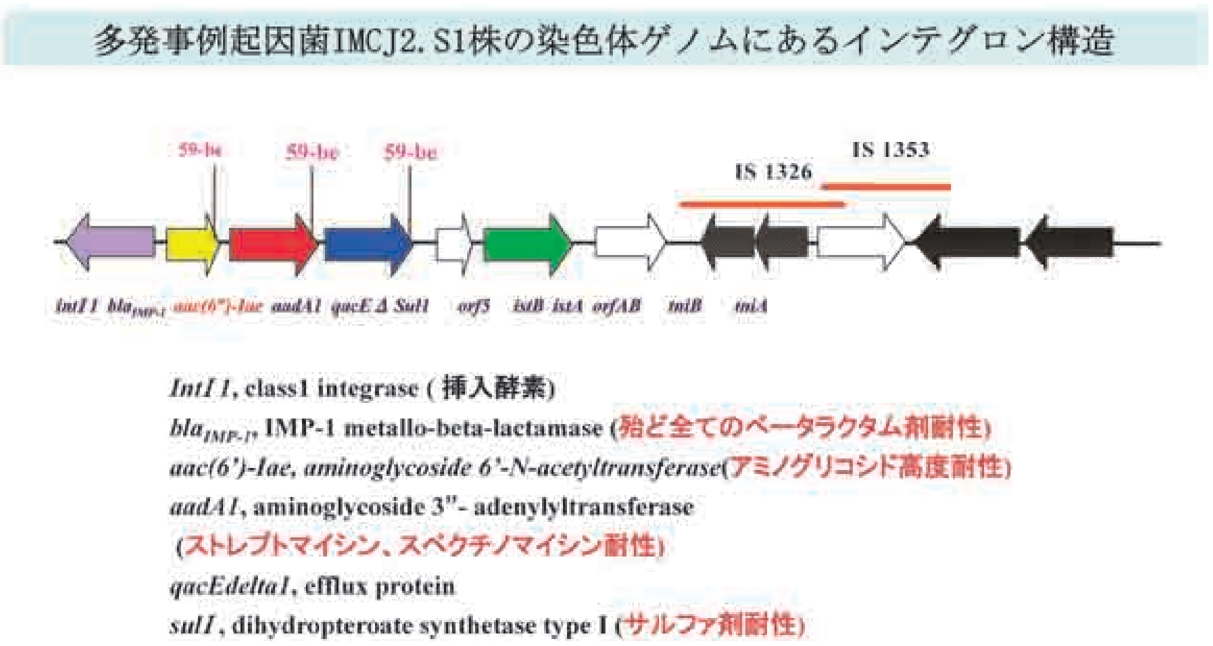


図２

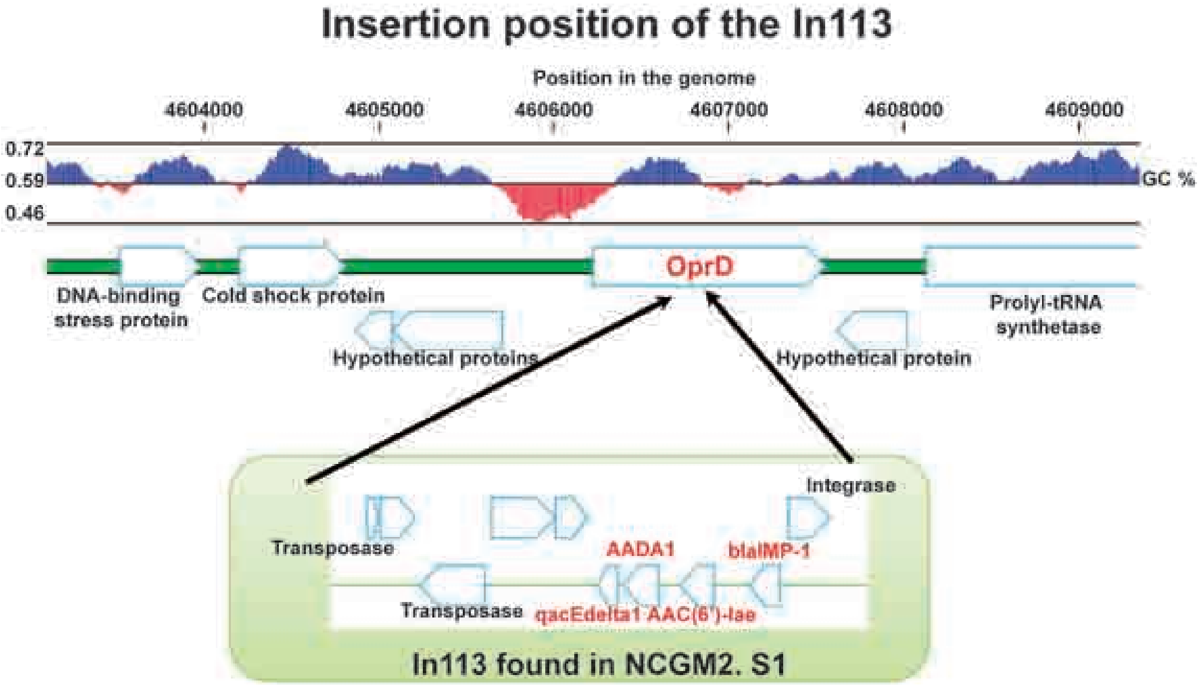


図３

３．MDRA の現状と分子疫学

ａ．アシネトバクターとは

アシネトバクター属菌は、緑膿菌などと同様にブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌である。形態的には緑膿菌と異なり、短い棒状の形をし、鞭毛を持たず、運動性はない。アシネトバクター属菌は、土壌、河川等の自然環境中からしばしば分離される。動物の糞便などからも分離される。アシネトバクター属菌は乾燥に比較的強い性質を持ち、また、菌体外に存在する DNA 断片を取り込んで、自己の染色体 DNA などに組み込む機構を持つため、グラム陰性桿菌の中では、自然形質転換を起こしやすい。アシネトバクターの語源は、ラテン語化されたギリシア語で、動くことができない（ア（a）は否定のギリシャ語＋シネトは動く（move）＋バクターは桿菌]）という意味のギリシャ語の語源に由来する。アシネトバクター属菌は1950年代から60年代までは、*Moraxella lwoffi* や *Micrococcus calcoaceticus* と呼ばれていた。*Acinetobacter* 属という名称は1954年に *Moraxella lwoffi* の属名変更により新設されたものである。現在のタイプ種である *Acinetobacter calcoaceticus* も1968年に *Acinetobacter* に移され、その後、多数のアシネトバクター属の種が発見された。この内、アシネトバクター・バウマニー（*A. baumannii*）は Linda and Paul Baumann 夫妻によって1968年にカイガラムシ（Sap-sucking insect）より分離された。その後、アシネトバクター・バウマニーは院内感染症の原因菌として高頻度に報告されるようになってきた。

ｂ．MDRA の定義

多剤耐性アシネトバクター・バウマニー（MDRA）はカルバペネム、アミノグリコシド、フルオロキノロンの３系統の抗菌薬に耐性を獲得した多剤耐性アシネトバクターによる感染症を

「薬剤耐性アシネトバクター感染症」と定義し、５類感染症定点把握疾患に定められている。検査室での判定基準は厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）のホームページ（http://www.nih-janis.jp/index.asp）に明確にされている。MDRA は MDRP と同様に、2000年頃からは臨床現場で用いられるほぼすべての薬剤に耐性を示す。

ｃ．分離状況及び多発事例

ｉ．MDRA の世界規模での伝播拡大

2003年のイラク戦争直後より、MDRA によるヨーロッパやアメリカ本土の米軍医療施設内アウトブレイクが多数発生した。その後の解析から、これらのアウトブレイクを起こした起因菌はイラク、アフガニスタンなどの中央、中東アジアで負傷した兵士によって欧米に伝播されたと考えられている（図４）。現在、米国内で分離されるアシネトバクターの約30％が MDRA であると報告されている。MDRA は中国、韓国、ベトナム、タイ、ネパールなどのアジア諸国の医療施設で高頻度に分離されることが多数報告されている。

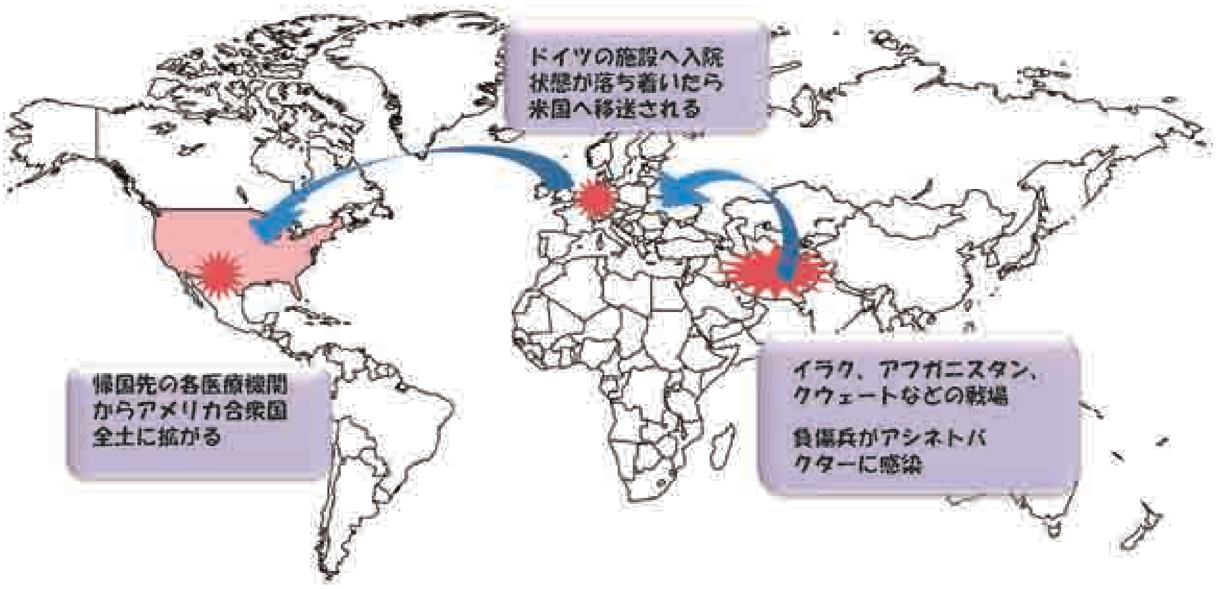


図４

ⅱ．我が国における分離状況

JANIS の報告によると、2007年７月から2009年12月までに我が国の医療施設で分離されたアシネトバクター属の内、多剤耐性アシネトバクター・バウマニー（MDRA）と判定された菌株は71,657株中98株（0.14％）であった。その後、2008年に福岡県、2009年に千葉県、2010年に愛知県で感染多発事例などが報告された。

ｄ．分子疫学

カルバペネマーゼおよび16S rRNA methylase を産生する MDRA は我が国の医療施設から分離されるようになってきた。これらはアジアから輸入されたと考えられる菌が特定の医療施設や地域でアウトブレイクを起こしていると考えられる。

分子疫学解析を目的として2012年７月～12月にかけてある検査センターで分離されたアシネトバクター属の調査を実施した。その結果、具体的にはアシネトバクター属16,343株（47県3,015

施設）の内、MDRA は49株（７県12施設）（0.26％）だった。これらの施設の多くでは多発事例として MDRA が伝播している可能性が考えられた。

日本の医療施設（図５）から分離された MDRA49株において種々の薬剤に対する MIC を調べたところ、アミノグリコシド系薬に対する MIC が全ての株で高度耐性を示した（表２）[6)]。全ゲノム解析を行った結果、全ての株からアミノグリコシドの標的である30S リボソームの16S rRNA をメチル化する酵素16S rRNA methylase ArmA をコードする遺伝子 *armA*，アミノグリコシドアセチルトランスフェラーゼ（アミノグリコシド修飾酵素）をコードする遺伝子 *aac (6')-Ib* が検出された。さらに、４株はカルバペネム系薬に対し MIC >64mg/L 以上の高度耐性を示し、カルバペネムを分解する酵素である OXA 型カルバペネマーゼ遺伝子 $bla_{OXA\text{-}72}$を保有していた。

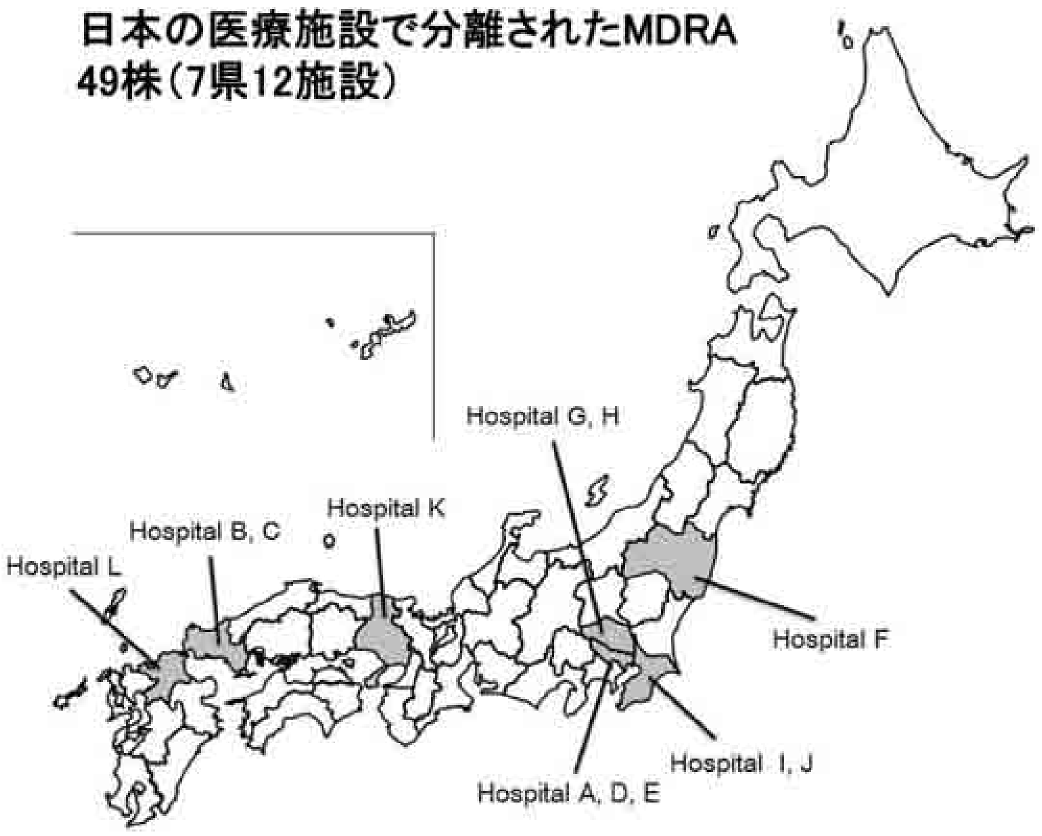


図５

表２

日本で分離されたMDRAの薬剤感受性試験

抗生剤	アシネトバクターバウマニー(n=49)			
	% Resistance	Range (mg/L)	MIC_{50} (mg/L)	MIC_{90} (mg/L)
アミカシン	100	>1024	>1024	>1024
シプロフロキサシン	100	32–1024	256	512
イミペネム	100	16–64	16	64
メロペネム	100	16–128	16	128

アシネトバクター・バウマニーの MLST 解析は Bartual らが開発した方法（http://pubmlst.org/abaumannii/）およびパスツール研究所が開発した方法（http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/Abaumannii.html）が良く用いられる。Bartual による MLST 解析では ST212、ST455および ST512の３つに分かれた。これらはパスツール研究所の方法では全て ST２であった。ST2はヨーロピアンクローン II（インターナショナルクローン II またはワールドワイドクローナルリネイジ II）と呼ばれる世界流行株に分類される。

PFGE に代わる新たな手法として、全ゲノム配列の SNPs 解析（SNPs コンカタネーション）に基づく分子系統解析が用いられるようになってきた。この方法はゲノム上の全ての SNPs を連結し基準株と比較する方法で、従来 PFGE 解析と比較するとはるかに精度が高い。SNPs 解析による分子系統解析の結果、３つの clade に分かれ、シークエンスタイピング（ST）208を示す clade、ST455を示す clade および ST512を示す clade に分かれた（図６）。

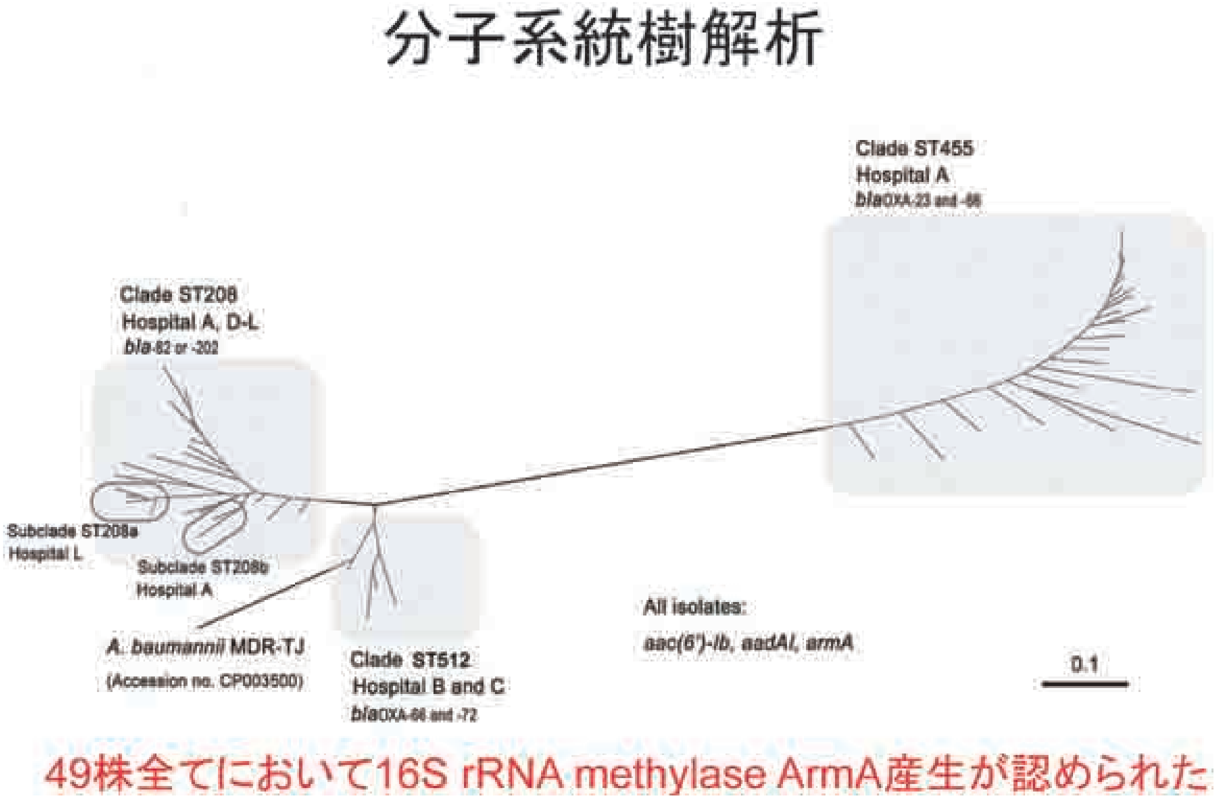


図６

ゲノム解析から *armA* 遺伝子はクロモゾームに存在していることが明らかとなった。2012年に分離された MDRA 臨床分離株49株は全て高度アミノグリコシド耐性を示し、16S rRNA methylase ArmA をコードする遺伝子 *armA* が検出された。過去、日本で *armA* 遺伝子を保有するアシネトバクター・バウマニーの報告は少なく、高頻度での分離報告はない。

高度アミノグリコシド耐性に寄与する16S rRNA methylase 産生菌の報告は、中国、韓国、東南アジア諸国で多く報告されている[7)]。よって、これらの国々から日本に持ち込まれた可能性が高いと考えられる。

今後も持続的なモニタリングを続けると共に、16S rRNA methylase 産生高度アミノグリコシド耐性菌を迅速に検出できるシステムを開発する必要があると思われる。

参考文献

1）Kirikae T. et al. Investigation of isolation rates of *Pseudomonas aeruginosa* with and without multidrug resistance in medical facilities and clinical laboratories in Japan. *J Antimicrob Chemother*. 61: 612-615, 2008.

2）Kitao T. et al. Emergence of a novel multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain producing IMP-type metallo- β -lactamase and AAC(6')-Iae in Japan. *Int J Antimicrob Agents*. 39: 518-521, 2012.

3）Kim MJ. et al. Dissemination of metallo- β -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* of sequence type 235 in Asian countries. *J Antimicrob Chemother*. 68: 2820-2824, 2013.

3）Maatallah M. et al. Poputation of *Pseudomonas aeruginosa* from five Mediterranean countries: evidence for frequentrecombination and epidemic occurrence of CC235. *PLoS One*. 6: e25617, 2011.

4）Sekiguchi J. et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain that cased a outbreak in aneurosurgery ward and its *aac(6')-Iae* gene cassette encoding a novel aminoglycoside acetyltransferase. *Antimicrob Agents Chemother*. 49: 3734-3742, 2005.

5）Miyoshi-Akiyama T. et al. Complete genome sequence of highly multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* NCGM2.S1, a representative strain of a cluster endemic to Japan. *J Bacteriol*. 193: 7010, 2011.

6）Tada T. et al. Dissemination of 16S rRNA methylase ArmA-producing *Acinetobacter baumannii* and emergence of OXA-72 carbapenemase coproducers in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*. 58: 3538-3540, 2014.

7）Wachino J. et al. Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: and update. *Drug Resist Updat*. 15: 133-148, 2012.

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 …………………………………………………………………………………………78
1．CRE とは何か …………………………………………………………………………78
2．これまでのカルバペネム耐性菌の特長………………………………………………78
3．なぜ CRE が問題なのか ………………………………………………………………78
a．市中感染症の原因にもなり得る CRE ………………………………………………78
b．CRE による血流感染症では半数が死亡する …………………………………………78
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 ……………79
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………………………………79
a．第三世代セファロスポリン耐性の獲得………………………………………………79
b．プラスミド媒介性の AmpC の獲得 ……………………………………………………79
c．プラスミド媒介性のカルバペネマーゼの獲得………………………………………80
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 ……………………80
5．カルバペネマーゼにはどのような種類があるか………………………………………82
a．MBL（メタロ - β - ラクタマーゼ） …………………………………………………82
b．KPC 型カルバペネマーゼ ………………………………………………………………82
c．OXA-48型カルバペネマーゼ …………………………………………………………82
6．カルバペネマーゼを産生しないカルバペネム耐性株…………………………………83
7．我が国における CRE の分離状況 ……………………………………………………83
8．今後注目すべきカルバペネマーゼ………………………………………………………83
a．新型 MBL …………………………………………………………………………………83
b．GES-5、GES-14、GES-18などのクラスＡ カルバペネマーゼ ……………………83
9．多剤耐性株と特定の遺伝子型の関連性…………………………………………………84
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 …84
11. CRE を検出するにはどのようにしたら良いか …………………………………………84
おわりに……………………………………………………………………………………………85
参考文献……………………………………………………………………………………………85

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 pneumonaie*）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 年頃からセフォタキシムやセフタ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

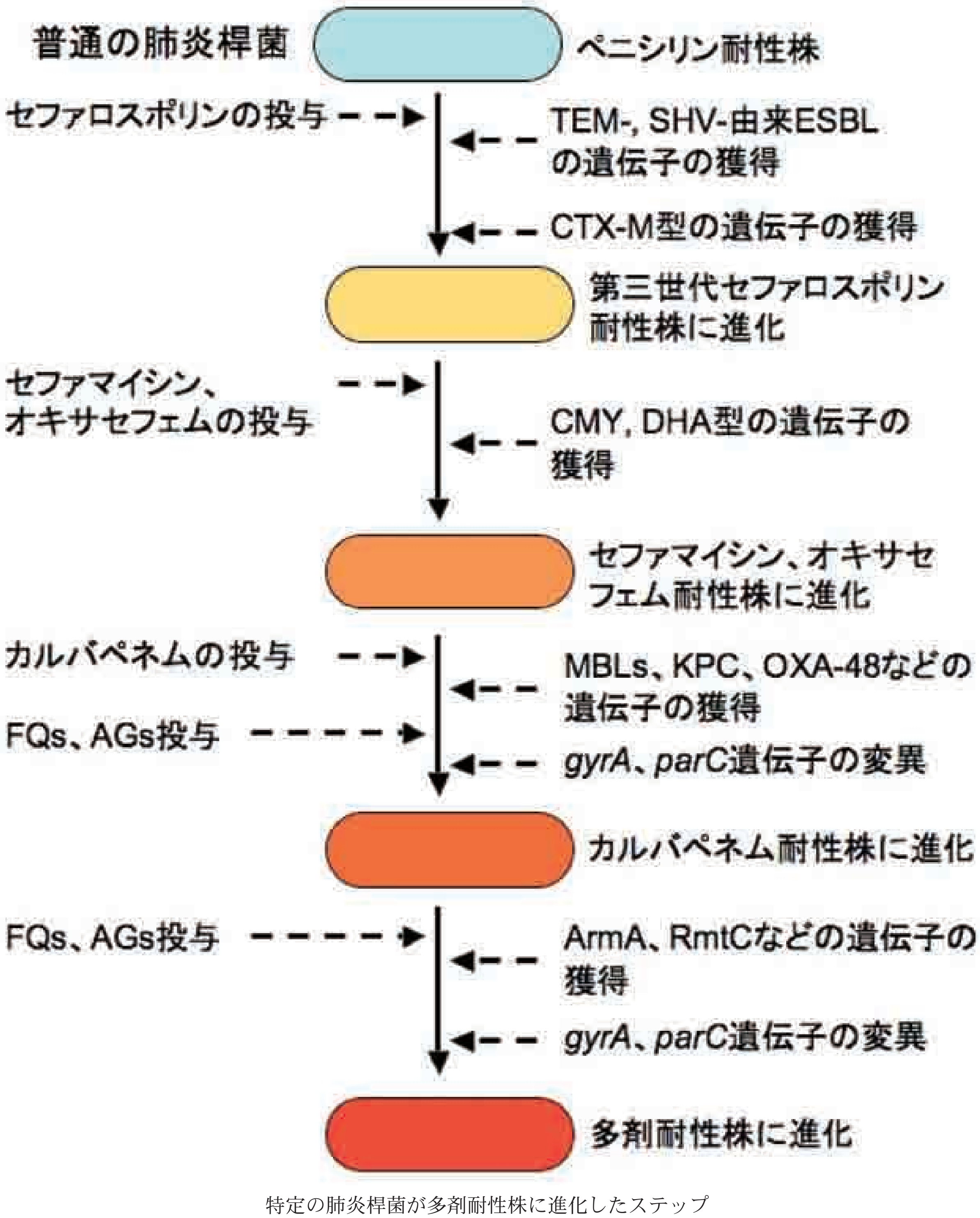
pAmpC を産生する肺炎桿菌や大腸菌であっても、イミペネムやメロペネムなどのカルバペネム系の薬剤には対抗できない。そこで、我が国では 1980 年代より、欧米でも 1990 年代からカルバペネム系薬が使用されるようになった。細菌はそのような過酷な環境を生き延びるため、1990 年代の終わりには米国で KPC-2 型カルバペネマーゼ（10）、2001 年にはトルコで OXA-48 型カルバペネマーゼの遺伝子を獲得した株が相次いで出現した（11）。また、少し遅れて 2000 年代の半ば頃から、NDM-1 型 MBL を産生する肺炎桿菌が、途上国であるインド／パキスタン地域で出現した（12）と考え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

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、欧米のようには広がらず、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年にスエ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 ～ 32μg /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などが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5mm-8mm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 μg/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るが、modified Hodge testが、CREのスクル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。

参考論文

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.

世界における*mcr-1*陽性菌の現状と今後の留意点

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
荒　川　宜　親

■内容

はじめに ……88
1．*mcr-1*とは何か ……89
2．*mcr-1*はなぜ問題なのか ……89
3．*mcr-1*保有株の分離状況 ……89
　a．ヒトからの分離状況 ……89
　b．家畜からの*mcr-1*保有株の分離状況 ……90
　c．食品からの分離状況 ……91
　d．ペット動物からの分離とヒトとの間での伝播 ……91
4．*mcr-1*遺伝子の獲得状況 ……91
　a．サルモネラ属等からの*mcr-1*遺伝子の検出 ……91
　b．赤痢菌からの*mcr-1*遺伝子の検出 ……91
5．*mcr-1*陽性株の環境からの分離状況 ……91
6．*mcr-1*陽性株に関して今後懸念される事態は何か ……92
　a．*mcr-1*を獲得したCRE株の出現 ……92
　b．*mcr-1*保有株の院内伝播とアウトブレイク ……92
　c．*mcr-1*遺伝子の多剤耐性プラスミドへの挿入 ……92
　d．*mcr-1*陽性株の療養型施設、介護施設における蔓延 ……92
　e．海外旅行者を介した*mcr-1*陽性株の地球規模的な拡散とわが国への侵入 ……92
　f．*mcr-1*が染色体上に転位、固定化された新しい多剤耐性流行クローンの出現 ……93
　g．野生動物による*mcr-1*陽性株の広域拡散と環境汚染 ……93
7．その他参考情報 ……93
おわりに ……93
参考文献 ……94

はじめに

2010年に、新型のメタロ－β－ラクタマーゼ遺伝子（*bla*$_{NDM-1}$）を保有する肺炎桿菌などの腸内細菌科細菌が出現し国際的に大きな関心事となったが、2014年頃より、コリスチン耐性株のア

ジア地域などでの広がりが報告されはじめた[1,2]。2016年にはプラスミド媒介性のコリスチン耐性遺伝子（*mcr-1*）が新たに報告され[3]、その後世界各地の臨床現場のみならず畜産現場や食品からも*mcr-1*陽性株が相次いで検出される事態となっており、その動向が国際的に強く警戒されつつある[4-5]ことから、本稿では、*mcr-1*の現状や問題点、今後懸念される事項等について整理した。

１．*mcr-1*とは何か

細菌は、感染した宿主の免疫応答から回避する手段の一つとして、細菌の細胞表層の構造を変化させる能力を有しており、例えば、LPS の構造や荷電状態を変化させるなどの機構を生来保持している。（添付の図参照）

伝達性プラスミドにより媒介されている*mcr-1*遺伝子に依存して産生される MCR-1というタンパクは、リポ多糖（lipopolysaccharide, LPS）の Lipid Ａの２つの多糖の末端に結合したマイナスにチャージしたリン酸基にホスホエノールピルビン酸を結合させ、荷電の状態をプラスに変化させる一連の反応に関与する酵素（phosphoethanolamine transferase enzyme family）の一つであると考えられている。その機能により、アミノ基が多くプラスにチャージしたコリスチンが、標的分子である細胞外膜の LPS に結合しづらくなり、その結果、コリスチン耐性が付与されるとされている。

２．*mcr-1*はなぜ問題なのか

まず、第一の問題点は、これまでに知られていたコリスチン耐性は染色体依存性であり、菌種を越えての伝播拡散は知られていなかった。しかし、*mcr-1*はプラスミド媒介性であり、グラム陰性桿菌、特に腸内細菌科の菌種内に広く拡散しつつある点である[6-7]。

第二の問題点は、*mcr-1*保有株は、必ずしもコリスチンに「耐性」と判定されない場合があり、見落とされてしまう危険性がある点である。

第三の問題点は、コリスチンは、ヒトの医療環境のみならず、畜産環境でも広く用いられており、家畜分離株や畜産物由来株からも*mcr-1*陽性株が多く分離されている点である[8]。

第四の問題点は、*mcr-1*保有株が、既に多くの国々や地域に拡散してしまっている点である。

第五の問題点は、*mcr-1*がサルモネラ属などの強毒菌からも検出される点である。

第六の問題点は、*mcr-1*保有株が、野生動物や環境中からも検出されはじめている点である。

３．*mcr-1*保有株の分離状況

ａ．ヒトからの分離状況

2015年８月に2012年にラオスのヒトおよびブタ由来の*Escherichia coli*の中に、ポリミキシンＢやコリスチン（＝ポリミキシンＥ）に耐性を獲得したクローナルな*E. coli*が存在するという調査結果が報告された[2]。その後、2016年に中国での大規模な調査が行われ、ゲノム解析の結果、家畜や食肉由来株とともに、浙江省や香港、マカオで2011-14年にヒトから分離された*E. coli*株などから*mcr-1*と新規に命名されたプラスミド媒介性のコリスチン耐性遺伝子が発見され

た[3]。同時に、ゲノムデータベースの検索から、中国のみならず、すでに欧州や米国のヒト由来株にも*mcr-1*保有株が検出される状況であることが明らかとなった[9]。

また、デンマークからの報告では、2015年にヒトの血液培養で分離されたESBLを産生する*E. coli* ST744で*mcr-1*保有株が確認されている[10]。その後、フランス[11]やオランダ[12]の研究者による調査や解析では、アルジェリア、ペルー、ボリビア、コロンビア、中国、チュニジア、タイ、ベトナム、カンボジア、ラオスなどの住民や家畜由来のESBL産生株の中に*mcr-1*保有株が相次いで発見されている。また、2015年10月に、ポーランドでもIS*Apl1-mcr-*1 regionを有する*E. coli* ST617（ST10のCCに含まれる）が50歳代の女性の肺炎患者から分離されている[13]。さらに、米国・英国・タイの共同調査では、カンボジアの小児から、*mcr-1*陽性*E. coli* ST354が確認されている[14]。中国では2013-15年に蘇州の病院の患者より分離された*E. coli* 2株と肺炎桿菌2株より*mcr-1*陽性株が確認された[15]。エジプトでは2015年に臨床分離された*E. coli*のうち1株から*mcr-1*が検出された。この株は$bla_{\text{CTX-M-15}}$およびclass 1 integron（*dfrA12-orfF-aadA2*）を保有しており、STは過去に家畜から報告されたことがあるST1011であった[16]。カナダで27人の中国人より*mcr-1*陽性*E. coli*が検出されている[17]。香港では、2015年に入院中の300人の患者の便をランダムに検査した結果、2歳から27歳までの5名から*mcr-1*陽性*E. coli*が分離されている[18]。イタリアでは、2箇所の検査所で2013-15年の間に分離されたコリスチン耐性*E. coli*を解析した結果、8株から*mcr-1*が検出されている[19]。中国の広州市の病院では、37歳の妊婦と70歳の男より*mcr-1*を獲得した同じ遺伝型の*Enterobacter cloacae*が分離されている[20]。スペインのバルセロナの病院では、2012-15年に分離された、10,011株の*E. coli*の中で、53株がコリスチン耐性を示し、その中の15株について*mcr-1*を保有していることが確認された[21]。台湾では、ヒト臨床検体と市販鶏肉から*mcr-1*を保有する*E. coli*が分離された[22]。アルゼンチンでは、2012年以降に9名の患者から分離された*E. coli*から*mcr-1*遺伝子が検出されている[23]。英国とWalesでは、2012-15年に分離された菌を解析した結果、10人から*mcr-1*を保有するサルモネラ属菌、2名から*mcr-1*を保有する*E. coli*、およびEUから輸入された鶏肉2件より*mcr-1*を保有するサルモネラ属菌が分離された[24]。南アフリカでは、2014-15年に臨床分離された7株の*E. coli*から、*mcr-1*が検出され、1株はCMY-2、2株はCTX-M-55を同時に産生する株であった[25]。中国杭州市では、2015年12月に下痢の小児から*mcr-1*が毒性の強い肺炎桿菌と*E. coli*から検出された[26]。

b．家畜からの*mcr-1*保有株の分離状況

家畜由来株のゲノムデータベースの検索により、日本で2012年と2013年に牛の乳腺炎より分離された*E. coli* ST457、およびブタの菌血症より分離された*Salmonella* Typhimuriumより*mcr-1*遺伝子が検出されている[27]。ベトナムでは、2箇所の養鶏場で2014-15年に実施した生きた鶏の直腸スワブ検査で分離されたESBL産生*E. coli*から、*mcr-1*保有株が検出された[28]。フランスでは、2014年に家畜から分離された*E. coli*の中で、七面鳥の5.9％、ブロイラーの1.8％より*mcr-1*陽性*E. coli*が分離された、また、2013年のブタ由来株では0.5％、ブロイラーでは1.6％、さらに2011年のブタでは0.5％で*mcr-1*が検出された[29]。スペインでは、ブタと鶏から*mcr-1*を保有する*E. coli*とサルモネラ属菌が分離されている[30]。英帝国の養豚場では、*mcr-1*を保有する*E. coli*とサルモネラ属菌が分離されている[31]。南アフリカでは2015年に病鶏（ブロイラー）の気嚢の病変部から分離された*E. coli*の19株で*mcr-1*が検出されている[32]。チュニジアの3箇

所の養鶏場では、2015年７月にフランスから輸入された健康な52羽の鶏について、糞便検査を実施したところ、29羽より*mcr-1*陽性*E. coli*が分離された[33]。南ベトナムの養鶏場と養豚場から*mcr-1*遺伝子を保有する*E. coli*が分離された[34]。ブラジルでは、2012-13年に鶏やブタから分離された*E. coli*から*mcr-1*が検出されている[35]。日本で2007-14年に病気のブタから分離された684株の*E. coli*のうち90株（13％）で*mcr-1*遺伝子が検出された[36]。

ｃ．食品からの分離状況

食品由来の*E. coli*やサルモネラ属菌のゲノムデータベースの検索から、*mcr-1*の遺伝子が確認されている[37]。オランダでは、市販鶏肉から分離された*E. coli*を検査した結果、2009年の１株（O8：H19，ST2079）と2014年の２株（O159：H4，ST117）より、*mcr-1*が検出されている[38]。

ｄ．ペット動物からの分離とヒトとの間での伝播

中国広州市の病院で３名の患者から*mcr-1*保有株が分離され、そのうちの一人が働いていたペットショップの４匹の犬から*mcr-1*遺伝子を持つ*E. coli* ST354が分離された[39]。

４．*mcr-1*遺伝子の獲得状況

ａ．サルモネラ属等からの*mcr-1*遺伝子の検出

英国とWalesでは、2012-15年に分離された菌を解析した結果、10人から*mcr-1*を保有するサルモネラ属菌、２名から*mcr-1*を保有する*E. coli*、およびEUから輸入された鶏肉２件より*mcr-1*を保有するサルモネラ属菌が分離された[24]。スペインでは、ブタと鶏から*mcr-1*を保有する*E. coli*とサルモネラ属菌が分離された[30]。英国の養豚場では、*mcr-1*を保有する*E. coli*とサルモネラ属菌が分離されている[31]。食品由来の*E. coli*やサルモネラ属菌のゲノムデータベースの検索から、*mcr-1*の遺伝子が確認されている[37]。データベース検索により2011年にポルトガルで食品から分離されたサルモネラ属菌株で*mcr-1*保有株が確認されている[40]。2012-2013年にフランスの食品（ソーセージ、パイ、鶏ムネ肉）や、養鶏場の長靴の拭き取りで*mcr-1*を保有するサルモネラ属菌が分離されている[41]。ポルトガルでは、2011-15年に、ヒト臨床検体と豚肉から*mcr-1*を保有するサルモネラ属菌が分離された[42]。中国の安徽、河北、黒竜江、河南、湖北、寧夏、山東と四川で2104-15年に病鶏より分離されたCTX-M-55などのESBL産生サルモネラ属の４株（7.5％）より、*mcr-1*が検出された。[43]

ｂ．赤痢菌からの*mcr-1*遺伝子の検出

2008年にベトナム人から分離された活性が欠失した壊れた*mcr-1*遺伝子を担うプラスミドを保持する赤痢菌やそれからプラスミドを獲得した*E. coli*をコリスチンに暴露させることで、コリスチンに耐性を獲得した株が出現したと報告されている[44]。

５．*mcr-1*陽性株の環境からの分離状況

2012年にスイスの川から分離されたESBL産生*E. coli* ST359から*mcr-1*保有株が分離された[45]。マレーシアで、2013年に鶏の内臓、ブタの糞、池の水、鶏の餌箱、およびヒトの尿から分

離された*E. coli*から*mcr-1*が検出された[46]。

6．*mcr-1*陽性株に関して今後懸念される事態は何か

a．*mcr-1*を獲得したCRE株の出現

現在、国際的なCREの流行が大きな懸念事項となっている。そこで、ドイツでゲノムデータ検索が実施され、ヒト検体から分離された*E. coli*でbla_{KPC-2}と*mcr-1*が検出された[47]。また、中国では、2014年に広州のスーパーマーケットで購入した鶏の羽肉より*mcr-1*とともにbla_{NDM-9}、*fosA3*、*rmtB*、$bla_{CTX-M-65}$、および*floR*を保有する*E. coli* ST167が検出されている[48]。さらに、中国で、*mcr-1*とbla_{NDM-5}の双方を保有する*K. pneumoniae*が２株、蘇州の病院の入院患者から分離されている[15]。これらの事実は、今後、*mcr-1*を獲得した各種のカルバペネマーゼ産生株が出現し地球規模で拡散する危険性を示唆している。

b．*mcr-1*保有株の院内伝播とアウトブレイク

*mcr-1*を保有するグラム陰性桿菌は、既に畜産環境ではかなり広範な広がりを見せているものの、ヒトの医療環境では、海外の一部の医療機関で院内感染を疑わせる報告があるものの、特に国内ではヒト臨床検体からは現時点で確認されていない。しかし、中国の成都、および北京の２つの独立した３つの病院で*mcr-1*を保有する*E. coli*が３人の患者から分離され、ST型は、それぞれ、ST167，ST156およびST457と報告されている[49]。また、オランダの病院で、複数の入院患者から*mcr-1*を保有する、*Enterobacter cloacae*、*E. coli*、*Klebsiella pneumonia*、*Klebsiella oxytoca*が分離されており[50]、*mcr-1*を保有するグラム陰性桿菌の医療環境での蔓延が強く危惧されている。

c．*mcr-1*遺伝子の多剤耐性プラスミドへの挿入

mcr-1遺伝子はIncI2、IncX4、IncHI2など様々なInc型の伝達性プラスミドにより媒介されている。これらのプラスミドは通常ESBLなどの遺伝子を媒介しているが、カルバペネマーゼ等を産生する多剤耐性株のplasmidに*mcr-1*遺伝子が新たに挿入さることにより、広範囲多剤耐性株（PDR株）が出現し蔓延することが強く懸念されている[51]。

d．*mcr-1*陽性株の療養型施設、介護施設における蔓延

第三世代セファロスポリン耐性に関与するESBL産生菌が療養型施設の入所者から分離されることは、欧米のみならず国内でも発生している。しかし、イタリアでは、長期療養型施設の３名の入所者から、*mcr-1*保有*E. coli*が分離される事態となっており、今後、*mcr-1*保有菌の療養型施設、介護施設などでの蔓延が警戒されている[52]。

e．海外旅行者を介した*mcr-1*陽性株の地球規模的な拡散とわが国への侵入

腸内細菌科の菌種をヒト腸管に保持していても通常では腸炎症状などを呈することはなく、しかも長期間定着する菌株もある。スイスでインド旅行から帰国した旅行者38人の便について増菌培養とコリスチンを添加した市販のスクリーニング培地を併用して検査したところ、４人より*mcr-1*陽性*E. coli*が分離され、そのうちの１株は、4211-bpのIS*Apl1*-*mcr-1*-IS*Apl1* element（添

付の図参照）を保有するST10株であった。このように、旅行者等が*mcr-1*蔓延地域を旅行した際に、*mcr-1*陽性株を腸内に獲得し保菌して持ち帰る可能性について特に感染制御の観点からは考慮する必要がある(53)。

f．*mcr-1*が染色体上に転位、固定化された新しい多剤耐性流行クローンの出現

前述したように*mcr-1*は、IS*Apl1-mcr-1* element（添付の図参照）により媒介されているため、プラスミド上から染色体上への転位も想定され、その場合、*mcr-1*遺伝子が染色体上に固定され脱落しづらくなる。染色体上に*mcr-1*遺伝子が転位した株が、腸管内に定着しやすかったり医療環境で伝播しやすいepidemic clone の場合には、地域的な流行にとどまらず、将来、世界的な拡散の原因ともなりうることが強く懸念される。事実、2013年に七面鳥から分離された*mcr-1*遺伝子を保有する*E. coli* 株は、最近、CTX-M-15やKPC-2などの遺伝子を媒介することが多く注目されている新しい流行クローンのST410であり(54) 今後の動向が注目される。

g．野生動物による*mcr-1*陽性株の広域拡散と環境汚染

カモメなどの野鳥は、広範囲を移動することが知られているため、その腸内に多剤耐性菌が保持されると、広範な自然環境の汚染の原因となりうる。2012年にアルゼンチンのUshuaiaで50羽のKelp gulls（カモメの一種）の糞を検査したところ、５羽から*mcr-1*陽性の*E. coli* 株が分離された(55)。また、リトアニアでは広域を飛行するセグロカモメ（*Larus argentatus*）の糞より*mcr-1*保有*E. coli* が分離されている(56)。これらの事実は、野生の鳥類を介した広範な環境汚染の可能性を警告している。

７．その他参考情報

ａ．MCR-1は、phosphoethanolamine transferase enzyme family の一種であり、*E. coli* で産生されるとlipid A にphosphoethanolamine を付加する作用を有し、コリスチン耐性を付与する(3)。

ｂ．*mcr-1*は、IncI2，IncP，IncX4，InxHI2などの伝達性plasmid に媒介されていることが多い(57-59)。（添付の図参照）

ｃ．*mcr-1*は、中国では1980年代の分離株からも検出されているが、2009年以降の分離株で急激な増加がみられる(60)。（添付の図参照）

おわりに

プラスミド媒介性の*mcr-1*が報告されてまだ１年を経ないが、これまでに報告された文献等の情報を整理した。今後も*mcr-1*に関する報告数は急激に増加すると考えられるが、薬剤耐性菌、特に*mcr-1*陽性株に関する研究や調査をされる際の参考となれば幸いである。なお、MCR-1の１アミノ酸置換ヴァリアントとしてMCR-1.2が報告されており、さらにMCR-1とはアミノ酸の相同性が80％程度のMCR-2の出現も最近報告されている(61) ことから、今後のMCR 酵素の多様化と蔓延に注意を払う必要がある。

参考文献

1. Olaitan AO, Diene SM, Kempf M, et al., Worldwide emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* from healthy humans and patients in Lao PDR, Thailand, Israel, Nigeria and France owing to inactivation of the PhoP/PhoQ regulator *mgrB*: an epidemiological and molecular study. Int J Antimicrob Agents. 2014 Dec; 44(6): 500-7.
2. Olaitan AO, Thongmalayvong B, Akkhavong K, et al. Clonal transmission of a colistin-resistant *Escherichia coli* from a domesticated pig to a human in Laos. J Antimicrob Chemother. 2015 Dec; 70(12): 3402-4.
3. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, et al., Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016 Feb; 16(2): 161-8.
4. Skov RL, Monnet DL. Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. Euro Surveill. 2016; 21(9).
5. Nordmann P, Poirel L. Plasmid-mediated colistin resistance: an additional antibiotic resistance menace. Clin Microbiol Infect. 2016 May; 22(5): 398-400.
6. Veldman K, van Essen-Zandbergen A, Rapallini M, et al., Location of colistin resistance gene *mcr-1* in *Enterobacteriaceae* from livestock and meat. J Antimicrob Chemother. 2016 May 30.
7. Xavier BB, Lammens C, Butaye P, et al., Complete sequence of an IncFII plasmid harbouring the colistin resistance gene *mcr-1* isolated from Belgian pig farms. J Antimicrob Chemother. 2016 Jun 3.
8. Rhouma M, Beaudry F, Letellier A. Resistance to colistin: what is the fate for this antibiotic in pig production? Int J Antimicrob Agents. 2016 May 6.
9. Hu Y, Liu F, Lin IY, et al., Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016 Feb; 16(2): 146-7.
10. Hasman H, Hammerum AM, Hansen F, et al., Detection of *mcr-1* encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015. Euro Surveill. 2015; 20(49).
11. Olaitan AO, Chabou S, Okdah L, et al., Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016 Feb; 16(2): 147.
12. Arcilla MS, van Hattem JM, Matamoros S, et al., Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016 Feb; 16(2): 147-9.
13. Izdebski R, Baraniak A, Bojarska K, et al., Mobile MCR-1-associated resistance to colistin in Poland. J Antimicrob Chemother. 2016 Jun 20.
14. Stoesser N, Mathers AJ, Moore CE, et al., Colistin resistance gene *mcr-1* and pHNSHP45 plasmid in human isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Lancet Infect Dis. 2016 Mar; 16(3): 285-6.
15. Du H, Chen L, Tang YW, Kreiswirth BN. Emergence of the *mcr-1* colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. Lancet Infect Dis. 2016 Mar; 16(3): 287-8.
16. Elnahriry SS, Khalifa HO, Soliman AM, et al., Emergence of plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* in a clinical *Escherichia coli* isolate from Egypt. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Apr 22; 60(5): 3249-50.
17. Ruppé E, Le Chatelier E, Pons N, et al., Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016 Mar;16(3):290-1.
18. Zhang R, Huang Y, Chan EW, et al., Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016 Mar; 16(3): 291-2.
19. Cannatelli A, Giani T, Antonelli A, et al., First detection of the *mcr-1* colistin resistance gene in *Escherichia coli* in Italy. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Apr 22; 60(5): 3257-8.
20. Zeng KJ, Doi Y, Patil S, et al., Emergence of the plasmid-ediated *mcr-1* ene in colistin-resistant *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*. Antimicrob Agents Chemother. 2016 May 23; 60(6):

3862-3.
21. Prim N, Rivera A, Rodríguez-Navarro J, et al., Detection of *mcr-1* colistin resistance gene in polyclonal *Escherichia coli* isolates in Barcelona, Spain, 2012 to 2015. Euro Surveill. 2016 Mar 31; 21(13).
22. Kuo SC, Huang WC, Wang HY, Shiau YR, Cheng MF, Lauderdale TL. Colistin resistance gene *mcr-1* in *Escherichia coli* isolates from humans and retail meats, Taiwan. J Antimicrob Chemother. 2016 Apr 13.
23. Rapoport M, Faccone D, Pasteran F, et al., First Description of *mcr-1*-mediated colistin resistance in human infections caused by *Escherichia coli* in Latin America. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jun 20; 60(7): 4412-3.
24. Doumith M, Godbole G, Ashton P, et al., Detection of the plasmid-mediated *mcr-1* gene conferring colistin resistance in human and food isolates of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in England and Wales. J Antimicrob Chemother. 2016 Apr 18. pii: dkw093. [Epub ahead of print]
25. Poirel L, Kieffer N, Brink A, et al., Genetic Features of MCR-1-producing colistin-resistant *Escherichia coli* isolates in South Africa. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jun 20; 60(7): 4394-7.
26. Gu DX, Huang YL, Ma JH, et al., Detection of colistin resistance gene *mcr-1* in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from an infant with diarrhea in China. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jun 6.
27. Suzuki S, Ohnishi M, Kawanishi M, et al., Investigation of a plasmid genome database for colistin-resistance gene *mcr-1*. Lancet Infect Dis. 2016 Mar; 16(3): 284-5.
28. Malhotra-Kumar S, Xavier BB, Das AJ, et al., Colistin-resistant *Escherichia coli* harbouring *mcr-1* isolated from food animals in Hanoi, Vietnam. Lancet Infect Dis. 2016 Mar; 16(3): 286-7.
29. Perrin-Guyomard A, Bruneau M, Houée P, et al., Prevalence of *mcr-1* in commensal *Escherichia coli* from French livestock, 2007 to 2014. Euro Surveill. 2016; 21(6).
30. Quesada A, Ugarte-Ruiz M, Iglesias MR, et al., Detection of plasmid mediated colistin resistance (MCR-1) in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from poultry and swine in Spain. Res Vet Sci. 2016 Apr; 105: 134-5.
31. Anjum MF, Duggett NA, AbuOun M, et al., Colistin resistance in *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates from a pig farm in Great Britain. J Antimicrob Chemother. 2016 May 4.
32. Perreten V, Strauss C, Collaud A, et al., Colistin resistance gene *mcr-1* in avian-pathogenic *Escherichia coli* in South Africa. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jun 20; 60(7): 4414-5.
33. Grami R, Mansour W, Mehri W, et al., Impact of food animal trade on the spread of *mcr-1*-mediated colistin resistance, Tunisia, July 2015. Euro Surveill. 2016; 21(8).
34. Nguyen NT, Nguyen HM, Nguyen CV, et al, Use of colistin and other critical antimicrobials on pig and chicken farms in southern Vietnam and its association with resistance in commensal *Escherichia coli* bacteria. Appl Environ Microbiol. 2016 Jun 13; 82(13): 3727-35.
35. Fernandes MR, Moura Q, Sartori L, et al., Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the *mcr-1* gene. Euro Surveill. 2016 Apr 28; 21(17).
36. Kusumoto M, Ogura Y, Gotoh Y, et al., Colistin-resistant *mcr-1*-positive pathogenic *Escherichia coli* in swine, Japan, 2007-2014. Emerg Infect Dis. 2016 Jul; 22(7): 1315-7.
37. Petrillo M, Angers-Loustau A, Kreysa J. Possible genetic events producing colistin resistance gene *mcr-1*. Lancet Infect Dis. 2016 Mar; 16(3): 280.
38. Kluytmans-van den Bergh MF, Huizinga P, Presence of *mcr-1*-positive *Enterobacteriaceae* in retail chicken meat but not in humans in the Netherlands since 2009. Euro Surveill. 2016; 21(9).
39. Zhang XF, Doi Y, Huang X, et al., Possible transmission of *mcr-1*-harboring *Escherichia coli* between companion animals and human. Emerg Infect Dis. 2016 Sep 15; 22(9).
40. Hu Y, Liu F, Lin IY, Gao GF, et al., Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016 Feb;16(2):146-7.
41. Webb HE, Granier SA, Marault M, et al., Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. Lancet

Infect Dis. 2016 Feb; 16(2): 144-5.
42. Campos J, Cristino L, Peixe L, et al. MCR-1 in multidrug-resistant and copper-tolerant clinically relevant *Salmonella* 1,4,[5],12: i:- and *S.* Rissen clones in Portugal, 2011 to 2015. Euro Surveill. 2016 Jun 30; 21(26).
43. Yang YQ, Zhang AY, Ma SZ, et al., Co-occurrence of mcr-1 and ESBL on a single plasmid in Salmonella enterica. J Antimicrob Chemother. 2016 Jun 20.
44. Pham Thanh D, Thanh Tuyen H, Nguyen Thi Nguyen T, et al., Inducible colistin resistance via a disrupted plasmid-borne *mcr-1* gene in a 2008 Vietnamese *Shigella sonnei* isolate. J Antimicrob Chemother. 2016 May 30.
45. Zurfuh K, Poirel L, Nordmann P, et al., Occurrence of the plasmid-borne *mcr-1* colistin resistance gene in extended-spectrum － β － lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in river water and imported vegetable samples in Switzerland. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Mar 25; 60(4): 2594-5.
46. Yu CY, Ang GY, Chin PS, et al., Emergence of *mcr-1*-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* in Malaysia. Int J Antimicrob Agents. 2016 Jun; 47(6): 504-5.
47. Falgenhauer L, Waezsada SE, Yao Y, et al., Colistin resistance gene *mcr-1* in extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Germany. Lancet Infect Dis. 2016 Mar; 16(3): 282-3.
48. Yao X, Doi Y, Zeng L, et al., Carbapenem-resistant and colistin-resistant *Escherichia coli* co-producing NDM-9 and MCR-1. Lancet Infect Dis. 2016 Mar; 16(3): 288-9.
49. Yu H, Qu F, Shan B, et al., Detection of *mcr-1* colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) from different hospitals in China. Antimicrob Agents Chemother. 2016 May 23.
50. Nijhuis RH, Veldman KT, Schelfaut J, et al., Detection of the plasmid-mediated colistin-resistance gene *mcr-1* in clinical isolates and stool specimens obtained from hospitalized patients using a newly developed real-time PCR assay. J Antimicrob Chemother. 2016 Jun 3.
51. Malhotra-Kumar S, Xavier BB, Das AJ, et al., Colistin resistance gene *mcr-1* harboured on a multidrug resistant plasmid. Lancet Infect Dis. 2016 Mar; 16(3): 283-4.
52. Giufrè M, Monaco M, Accogli M, et al., Emergence of the colistin resistance *mcr-1* determinant in commensal *Escherichia coli* from residents of long-term-care facilities in Italy. J Antimicrob Chemother. 2016 Jun 3.
53. Bernasconi OJ, Kuenzli E, Pires J, et al., Travelers can import colistin-resistant *Enterobacteriaceae* including those possessing the plasmid-mediated *mcr-1* gene. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jun 13.
54. Falgenhauer L, Waezsada SE, Gwozdzinski K, et al., Chromosomal locations of *mcr-1* and $bla_{CTX\text{-}M\text{-}15}$ in fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* ST410. Emerg Infect Dis. 2016 Sep 15; 22(9).
55. Liakopoulos A, Mevius DJ, Olsen B, et al., The colistin resistance *mcr-1* gene is going wild. J Antimicrob Chemother. 2016 Jun 20.
56. Ruzauskas M, Vaskeviciute L. Detection of the mcr-1 gene in Escherichia coli prevalent in the migratory bird species Larus argentatus. J Antimicrob Chemother. 2016 Jun 20.
57. Zhi C, Lv L, Yu LF, Doi Y, et al., Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016 Mar; 16(3): 292-3.
58. Li A, Yang Y, Miao M, et al., Complete Sequences of *mcr-1*-harboring plasmids from extended-spectrum- β -lactamase- and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jun 20; 60(7): 4351-4.
59. Zurfluh K, Klumpp J, Nüesch-Inderbinen M, et al., Full-length nucleotide sequences of *mcr-1* harboring plasmids isolated from extended-spectrum β -lactamase (ESBL)- producing *Escherichia coli* of different origins. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jun 20.
60. Shen Z, Wang Y, Shen Y, Set al., Early emergence of *mcr-1* in *Escherichia coli* from food-producing

animals. Lancet Infect Dis. 2016 Mar; 16(3): 293.
61. Xavier BB, Lammens C , Ruhal R, et al., Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016, Eurosurveillance, Volume 21, Issue 27, 07 July 2016.
http://www.cidrap.umn.edu/news-perspective/2016/07/researchers-belgium-identify-novel-colistin-resistance-gene

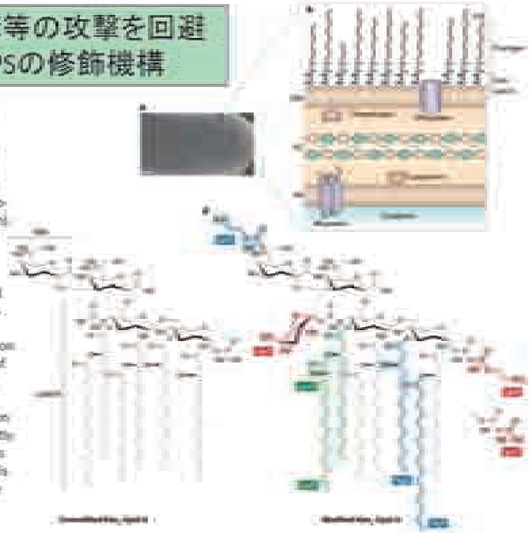
補足図表

コリスチン耐性*mcr-1*遺伝子を保有する菌株の出現状況および*mcr-1*遺伝子を媒介するIS*Apl1*やplasmidの構造

2016年7月13日時点までの文献情報等を整理したものです。

細菌が免疫機構等の攻撃を回避するためのLPSの修飾機構

The LPS modifications that occur in Salmonella spp. The enzymes responsible are controlled by either the PmrAB two-component system (red) or the PhoPQ two-component system (blue), or have no known two-component regulatory system (green). The various possible modifications include the addition of 4-amino-4-deoxy-l-arabinose (aminoarabinose) moieties (by ArnT) and phosphoethanolamine moieties (by EptA and EptB), as well as phosphorylation (by LpxT), deacylation (by PagL and LpxR, resulting in loss of acyl chains, as indicated by dashed lines), acylation (by PagP) and hydroxylation (by LpxO). Transcription of the gene encoding LpxO is modestly induced by PhoPQ, but LpxO remains active in conditions in which PhoPQ is inactive, suggesting that the enzyme acts independently of this two-component system.



Needham BD, Trent MS. Fortifying the barrier: the impact of lipid A remodelling on bacterial pathogenesis. Nat Rev Microbiol. 2013 Jul;11(7):467-81.

中国の鶏由来株におけるmcr-1保有株の過去の分離状況

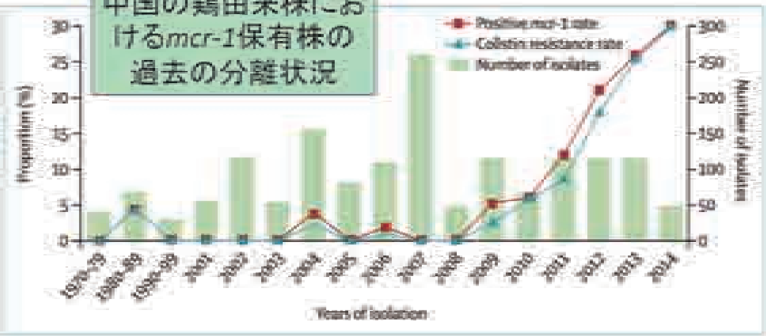
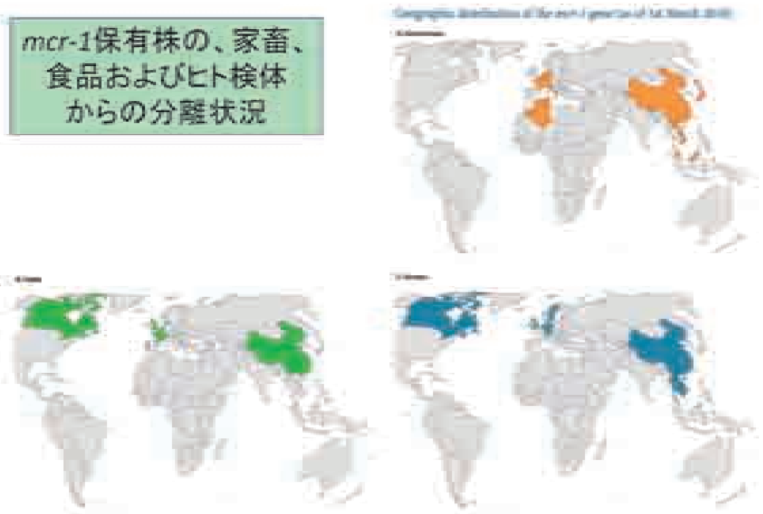


Figure: Presence of mcr-1 and colistin resistance in Escherichia coli of chicken origin during 1970–2014
Susceptibility testing of colistin was done by agar dilution and interpreted according to European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing clinical breakpoints (version 6.0). Strains with a minimum inhibitory concentrations >2 mg/L are reported as resistant E coli.

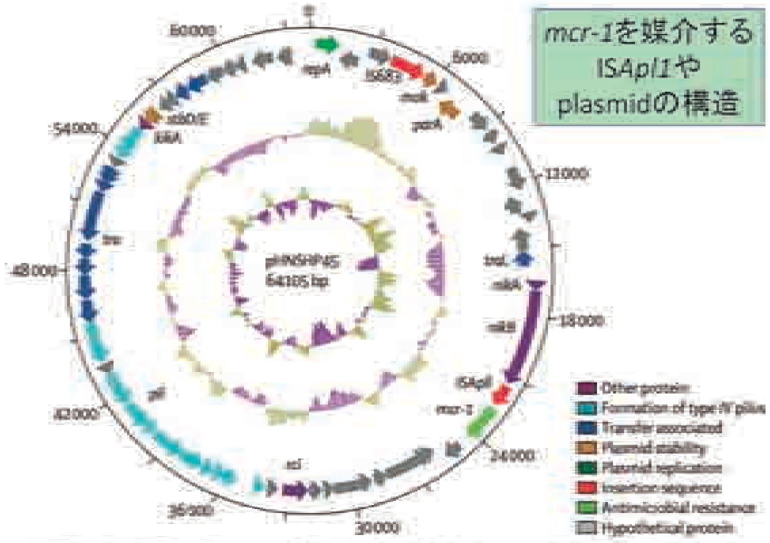
Shen Z, Wang Y, Shen Y, Set al., Early emergence of mcr-1 in *Escherichia coli* from food-producing animals. Lancet Infect Dis. 2016 Mar;16(3):293.

*mcr-1*保有株の、家畜、食品およびヒト検体からの分離状況

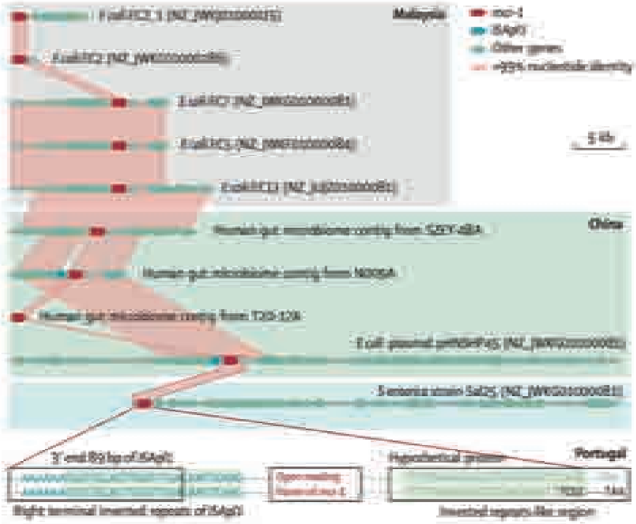


Skov RL, Monnet DL. Plasmid-mediated colistin resistance (mcr-1 gene): three months later, the story unfolds. Euro Surveill. 2016;21(9).

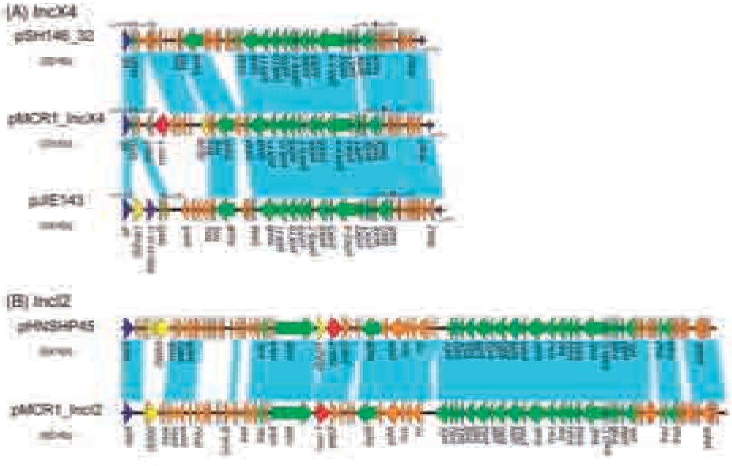
*mcr-1*を媒介するISA*pl1*やplasmidの構造



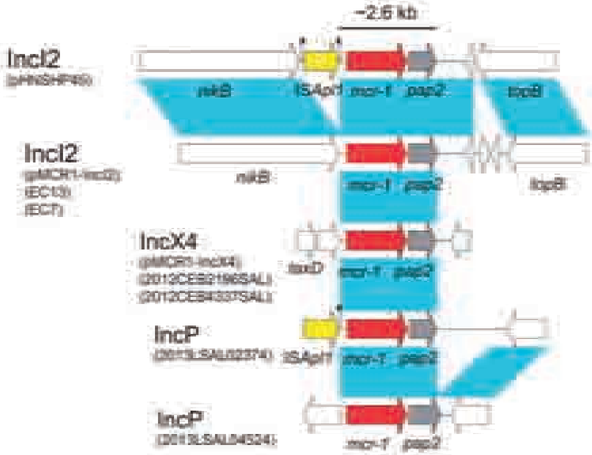
Liu YY, Wang Y, Walsh TR, et al., Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016 Feb;16(2):161-8.



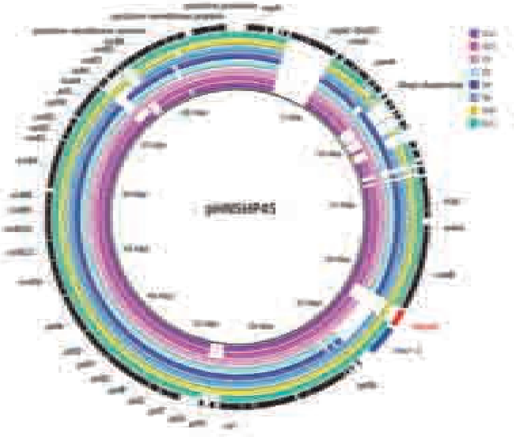
Hu Y, Liu F, Lin IY, Gao GF, Zhu B. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene.
Lancet Infect Dis. 2016 Feb;16(2):146-7.



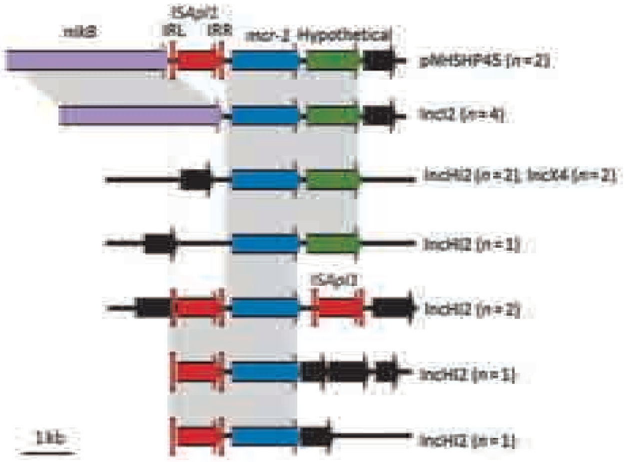
Li A, Yang Y, Miao M, et al.
Complete Sequences of mcr-1-Harboring Plasmids from Extended-Spectrum-β-Lactamase- and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae.
Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jun 20;60(7):4351-4.



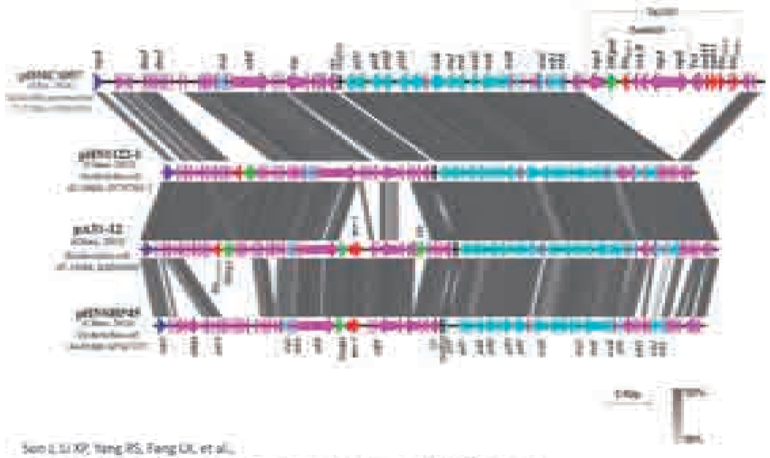
Li A, Yang Y, Miao M, et al.
Complete Sequences of mcr-1-Harboring Plasmids from Extended-Spectrum-β-Lactamase- and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae.
Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jun 20;60(7):4351-4.



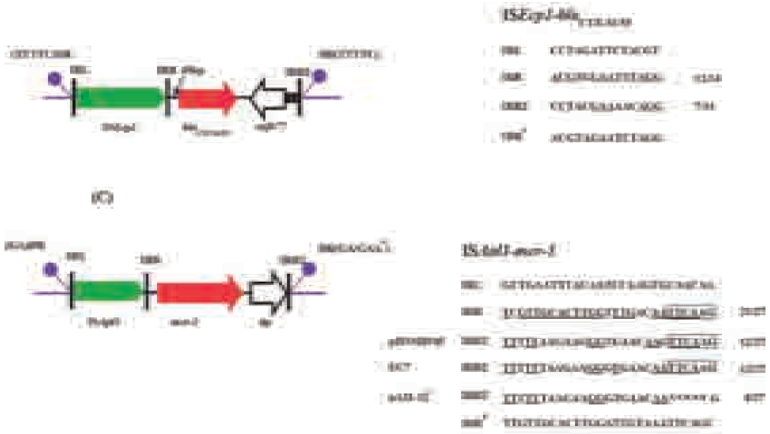
Doumith M, Godbole G, Ashton P, et al.
Detection of the plasmid-mediated mcr-1 gene conferring colistin resistance in human and food isolates of Salmonella enterica and Escherichia coli in England and Wales.
J Antimicrob Chemother. 2016 Apr 18.



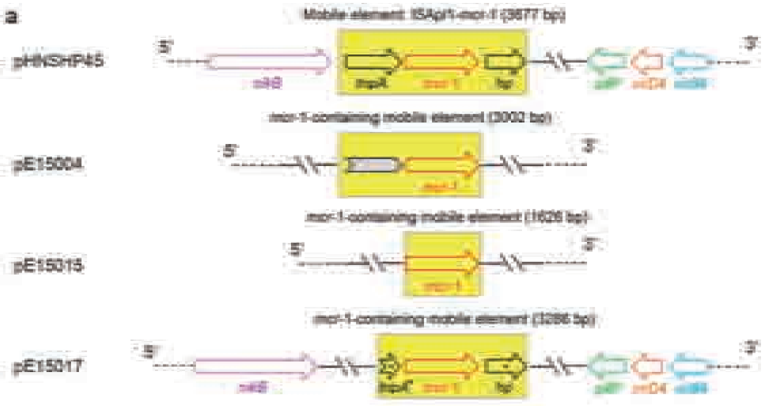
Doumith M, Godbole G, Ashton P, et al.,
Detection of the plasmid-mediated mcr-1 gene conferring colistin resistance in human and food isolates of Salmonella enterica and Escherichia coli in England and Wales.
J Antimicrob Chemother. 2016 Apr 18.



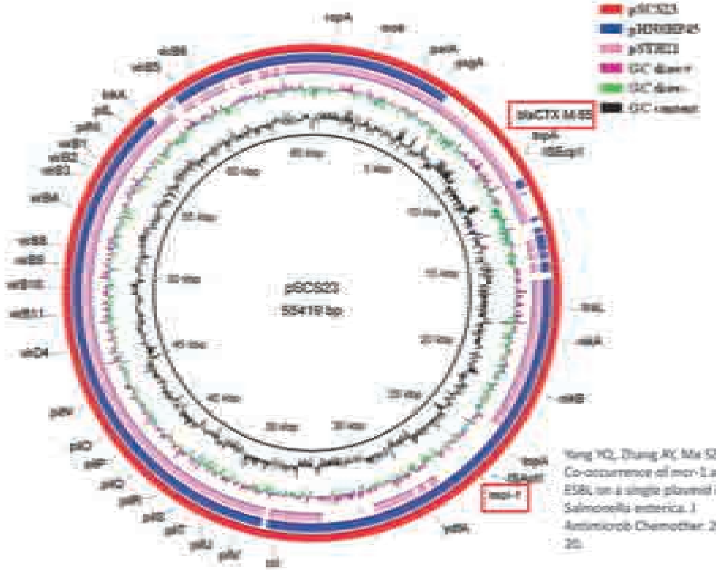
Sun J, Li XP, Yang RS, Fang LX, et al.,
Complete Nucleotide Sequence of IncI2 Plasmid Co-harboring blaCTX-M-55 and mcr-1.
Antimicrob Agents Chemother. 2016 May 23.



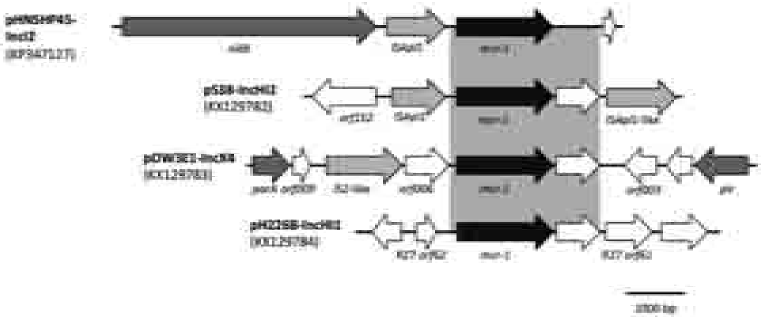
Sun J, Li XP, Yang RS, Fang LX, et al.,
Complete Nucleotide Sequence of IncI2 Plasmid Co-harboring blaCTX-M-55 and mcr-1.
Antimicrob Agents Chemother. 2016 May 23.



Ye H, Li Y, Li Z, Gao R, Zhang H, Wen R, Gao GF, Hu Q, Feng Y.
Diversified mcr-1-Harbouring Plasmid Reservoirs Confer Resistance to Colistin in Human Gut Microbiota. MBio. 2016 Apr 5;7(2):e00177. doi: 10.1128/mBio.00177-16.



Yang YQ, Zhang AY, Ma SZ, et al.. Co-occurrence of mcr-1 and ESBL on a single plasmid in Salmonella enterica. J Antimicrob Chemother. 2016 Jun 20.



Zurfluh K, Klumpp J, Nüesch-Inderbinen M, et al.. Full-length nucleotide sequences of mcr-1 harboring plasmids isolated from extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli of different origins. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jun 20.

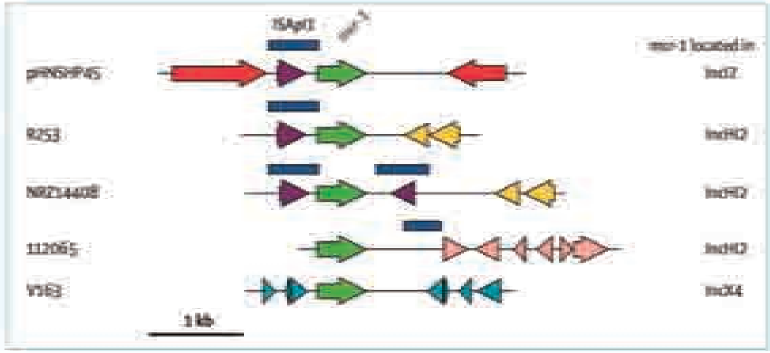


Figure: Gene environment surrounding mcr-1 in 112065, V163, NRZ14408, and R253 compared with plasmid pHNSHP45
Green arrows depict the mcr-1 gene, ISApl1 is shown by a blue bar with the transposase marked in purple. Other colours refer to unrelated gene segments flanking the mcr-1 gene.

Falgenhauer L, Waezsada SE, Yao Y et al.. Colistin resistance gene mcr-1 in extended-spectrum β-lactamase-producing and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Germany.Lancet Infect Dis. 2016 Mar;16(3):282-3.

*mcr-1*を保有する
NDM-9産生株の
プラスミドプロファイル
と耐性遺伝子

Yao X, Doi Y, Zeng L, Lv L, Liu JH. Carbapenem-resistant and colistin-resistant Escherichia coli co-producing NDM-9 and MCR-1. Lancet Infect Dis. 2016 Mar;16(3):288-9.

性感染症起因菌の薬剤耐性

国立感染症研究所　細菌第一部

大　西　　　真

■内容

１．はじめに　……………………………………………………………………………… 102
２．国内における細菌性の性感染症の動向　……………………………………………… 102
３．淋菌の薬剤耐性　……………………………………………………………………… 103
４．終わりに　……………………………………………………………………………… 106
参考文献　…………………………………………………………………………………… 107

１．はじめに

もっぱら性行為によって感染伝播する感染症においても薬剤感受性の問題は古くて、そして新しい話題である。細菌性の性感染症は感染症法においては５類全数把握疾患として梅毒が、５類性感染症定点病院（約1000定点）からの報告されるものとして性器クラミジア、淋菌感染症が挙げられる。これらの性感染症に罹患した患者は皮膚科、泌尿器科、婦人科、あるいはSTIクリニック、性病科と呼ばれるところを受診することになる。最近は郵送検査で自らチェックをして、結果に応じて受診することもあるようである。

梅毒トレポネーマは人工的に培養することはできない。また *Chlamidyia trachomatis* もその分離培養は困難である。また、*Neisseria gonorrhoeae* は分離同定はできても、一般の検査機関では保存が困難との話をよく耳にする。梅毒トレポネーマおよび *C. trachomatis* の薬剤感受性試験は通常実施されない。また、淋菌の薬剤感受性試験も実態としては実施されるケースは稀であると考えられる。

今回は、性感染症の動向を梅毒トレポネーマの薬剤感受性について若干触れながら紹介する。それに続き淋菌の薬剤感受性について紹介する。

２．国内における細菌性の性感染症の動向

図１に梅毒、性器クラミジア、淋菌感染症の1999年から2013年における発生動向を示した。

梅毒は全数把握疾患であるからその報告数で動向を示した。500–800程度の報告数で推移してきたが、2013年は1228症例が報告された。2014年も増加傾向は不変で報告数は1671となっている[1、2]。

梅毒治療の第一選択はペニシリン系薬剤である。これまでペニシリン治療抵抗性を示す梅毒の報告はなく、梅毒トレポネーマのペニシリン感受性は維持されている。しかしながら、海外にお

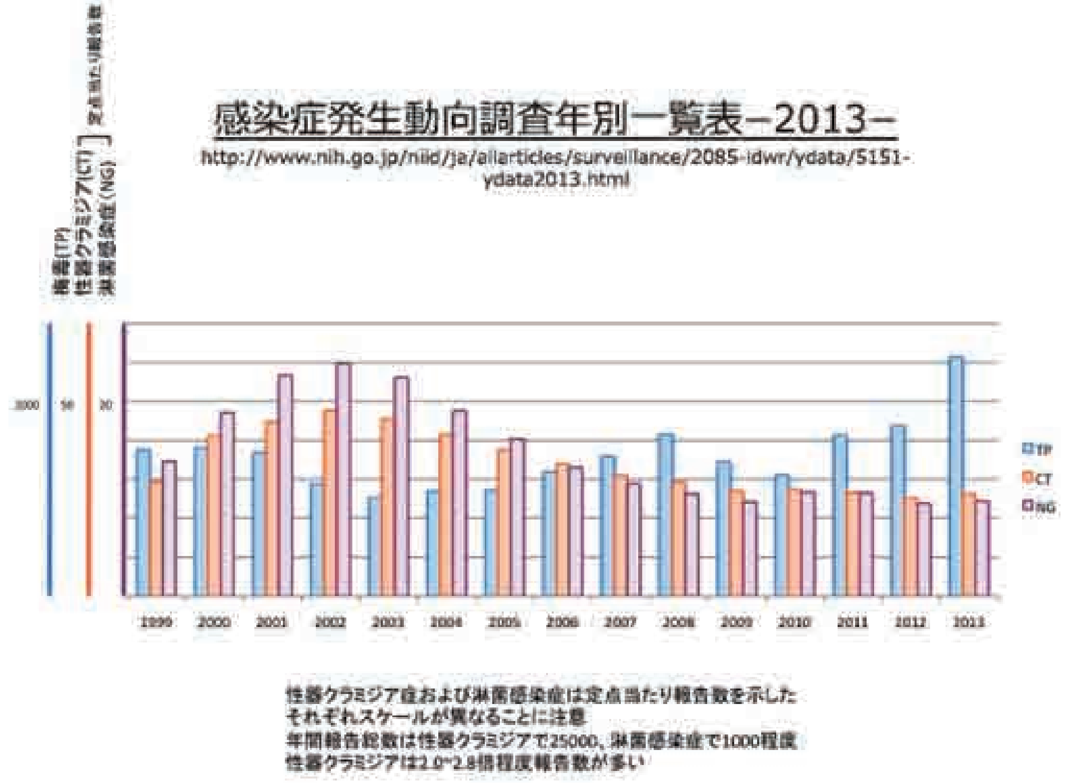


図１　細菌性性感染症の発生動向
―梅毒は報告数、性器クラミジアおよび淋菌感染症は定点あたりの報告数を縦軸にしめしている。それぞれ、縦軸のスケールが異なることに注意（３つの感染症の棒の高さを比べることはできない）

いてはペニシリンアレルギーあるいは経口剤であることの簡便さから用いられることがあるアジスロマイシンに対する耐性を示す梅毒トレポネーマの報告がある。アジスロマイシン耐性は梅毒トレポネーマ染色体上に存在する２コピーの23SrRNA遺伝子の両コピーの2058位に１塩基置換が起きることによる(3、4)。このアジスロマイシン耐性梅毒トレポネーマの存在は、欧米、中国等世界中で示されており国際的に伝播していることが推測されている。国内での梅毒症例においてもこの変異を持つ梅毒トレポネーマの核酸が病変部位に存在することを示した知見があり（中山ら。未発表）、梅毒トレポネーマの国際的な伝播に我が国も無縁でないことを示唆する。

性器クラミジアおよび淋菌感染症は定点把握疾患であり、患者実数を知ることはできない。図１においては定点当たりの報告数を用いてその発生動向を示した。性器クラミジアおよび淋菌感染症、共に2002年に報告数がピークに達し（定点当たる47.7および23.9。それぞれ報告総数は43,766および21,92）、その後共に漸減してきた。しかし、2009年以降減少傾向は止まり定点あたり性器クラミジアの場合は25.3-27.3、淋菌感染症の場合では9.5-10.7の範囲で推移している。それぞれ2013年の報告総数は25,606および9,488であった。

３．淋菌の薬剤耐性

現在では、淋菌感染症の診断は核酸診断が感受性・特異性ともに優れており、広く利用されている。一方で、鏡検による白血球によるグラム陰性双球菌の観察や培養検査がなされる機会は減少していると考えられる。培養検査が行われないことは、すなわち感受性試験がなされないこと

を意味しているため、関連学会からなされる使用薬剤の推奨は治療方針に極めて重要である。患者の治療および感染伝播の抑止のためには単回投与によって、少なくとも95％以上の症例で治療が期待される薬剤を推奨することが重要であると考えられている。

淋菌感染症はペニリシリンの実用化により、その治療の展望が開けた感染症であり、抗菌治療が必須である。他の多くの病原菌同様淋菌もペニシリン耐性を獲得し、さらに他の第一選択薬として使われてきた薬剤に対しても耐性を次々と獲得してきた[5]。

ペニシリン耐性はプラスミド性のßラクタマーゼ遺伝子の獲得によるものと、染色体性のペニシリン結合タンパク質２（PBP２）の変異によるものが存在する。テトラサイクリンに対しても同様に、淋菌はプラスミド性ならびに染色体性の耐性遺伝子を保有することがあり、国内外を問わず治療薬として推奨されることはない。ペニシリン、テトラサイクリンはともに第一選択薬として広く使用されていたが、耐性淋菌が出現し世界的に拡散した。そのため両剤は治療薬として推奨されていない。1990年代にはフルオロキノロン、経口第三世代セファロスポリン剤が第一選択薬として利用されていたが、いずれも耐性菌が出現したことで使用困難となった。

国内の分離淋菌の薬剤感受性結果に関しては、我々の研究グループを含めていくつかの研究グループが分離株を収集し経年変化を調査してきた。おおよその耐性傾向は類似しているため、今回は我々の京都大阪地域でのサーベイランス結果の概要を紹介する。

2010年４月より2015年６月までに検体より分離された淋菌株（ｎ＝870）の感受性プロファイルを図２に示した。ペニシリン（PG)、セフェキシム（CFM)、セフトリアキソン（CRO)、シプロフロキサシン（CIP)、アジスロマイシン（AZM）のデータを示した。それぞれ２μg/ml、0.5μg/ml、0.5μg/ml、１μg/ml、１μg/ml以上の MIC を示す株を耐性株、前４剤については0.125μg/ml未満、AZM では0.5μg/ml未満の MIC を示す株を感受性株とした。治療失敗例の症例の蓄積がなされてきて、CFM、CRO においては、それぞれ0.25μg/mlおよび0.125μg/ml以上の MIC 値となる株を注視する傾向にある。CRO に関しては黄色・赤色で示した部分が0.125μg/ml以上となり、2.3％を占めた。CFM に関しては黄色・赤色で示した部分（0.125μg/ml以上）で54.8％を占めたが、0.25μg/ml以上でも11.6％であった。

わが国での淋菌感染症で推奨される薬剤はいずれも注射剤であるセフトリアキソン、セフォジジムあるいはスペクチノマイシンとなる。近年、咽頭に存在する淋菌の除菌の必要性（感染源と

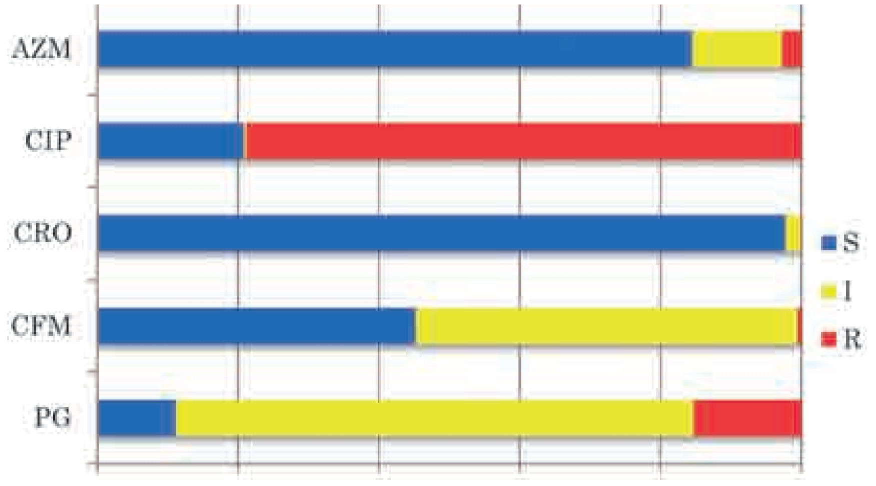


図２　京都大阪2010-2015年の淋菌の薬剤感受性（詳細は本文を参照）

なる可能性が指摘されているため）から、唯一効果が認められているセフトリアキソンが第一選択薬となる。咽頭淋菌の可能性がない場合にはセフォジジムおよびスペクチノマイシンも利用可能である。セフトリキソンに対する感受性が減弱していることが世界的に危惧されているなかで、2009年日本において世界で初めてとなるセフトリアキソン耐性株（H041株）が分離された[6,7]。この株はPBP２遺伝子の一部が非病原性ナイセリア属菌由来と推測される断片と交換された染色体性の変異株であった。その後H041株の国内外での伝播は認められていない。一方で、異なる染色体性変異セフトリアキソン耐性株がフランスおよびスペインで分離されたが(F89株と呼ばれている)、この拡散も小規模であり３症例に限られている[8,9]。PBP２遺伝子

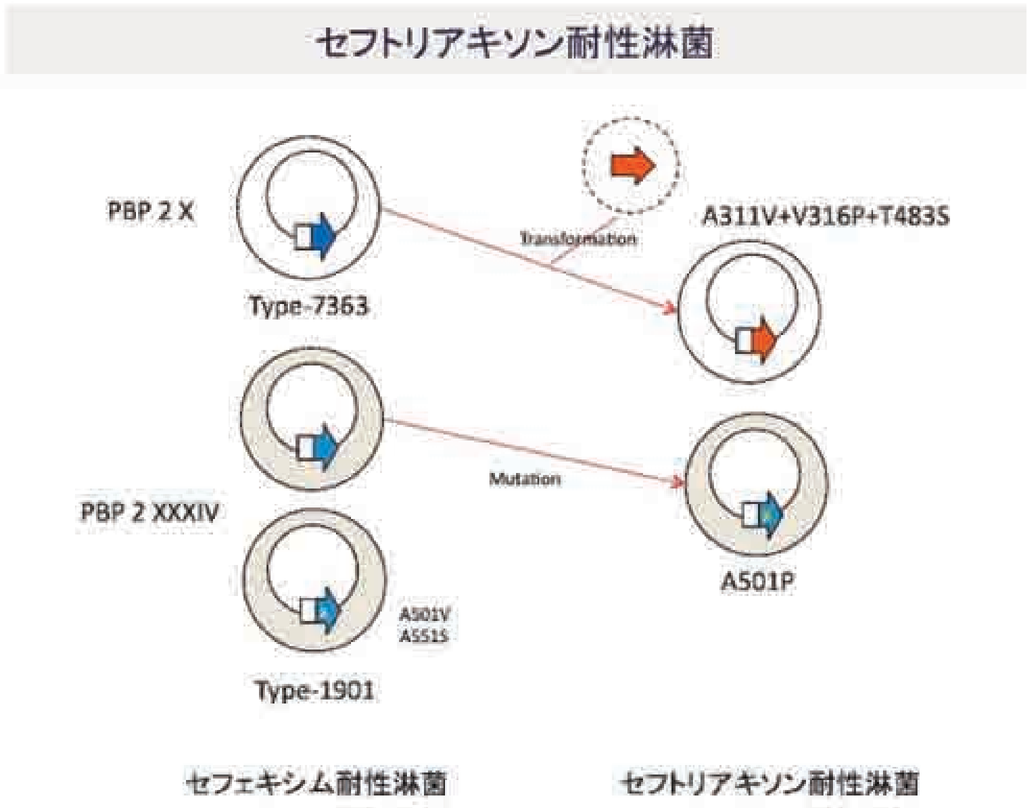


図３　セフトリアキソン耐性淋菌
―２種類のPBP２変異のメカニズムを示した。

の多型については講演のなかで詳述する予定である（図３）。

耐性株の拡散は認められていない一方で、MIC値の上昇には留意する必要がある（図４上）。京都大阪地区のサーベイランスからはMIC値0.125μg/ml以上を示す株は５％以下で推移していたが、一方でMIC値0.06～0.09μg/mlを示す菌株が漸増していた。これらのMIC値を示す株のPBP２遺伝子に１塩基置換が起こることにより、ヨーロッパで分離されたセフトリアキソン耐性株F89と同等の耐性度示すことが推測される。そのため、国内で拡散している淋菌から再びセフトリアキソン耐性株が出現することが危惧されている。

一方で、推奨薬剤が注射剤のみであることの戸惑いが現場にはある。単回投与で十分な効果が期待される経口薬の開発が望まれてきた。その中でアジスロマイシン（２ｇドライシロップ）が利用可能となった。しかしながら、十分な治療効果評価、特に咽頭の淋菌に対する効果が不明であるため、国内では推奨されていない。京都大阪の分離菌株の調査の結果、分離株の耐性（MIC

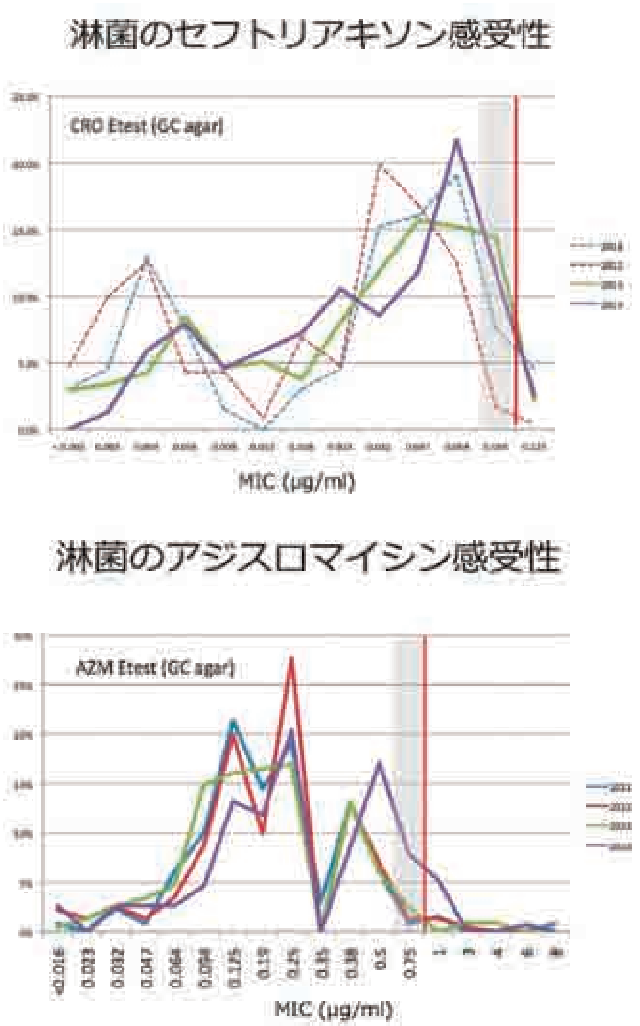


図４　淋菌のセフトリアキソン、アジスロマイシン感受性

値１μg/㎖以上）率は徐々に増加し、すでに５％超となったことが示された（図４下)。なんらかの選択圧が存在することが推測されたが、その詳細は不明である。今後の動向を注視するとともにアジスロマイシン単剤投与を選択する場合は、治療効果判定を確実に実施する方策を考える必要がある。また、患者に対しても治癒判定がなされるまでは、オーラルを含めた性行為がパートナーへの感染リスクを高めることを伝えなければならない。

終わりに

海外ではアジスロマイシンは、剤型が異なることもあるが、すでに高度耐性株が出現していることから、単剤使用は推奨されない。欧米ではセフトリアキソン耐性株の出現の未然に防ぐ目的で、アジスロマイシンとの二剤併用療法を推奨している[9、10]。国内でセフトリアキソン１ｇをiv で投与することを推奨しているが、国外では im での投与が一般的であるため、500mg あるいは250mg 投与となる。この用量では咽頭淋菌の除菌には十分ではなく、逆に耐性株出現の駆動力になる可能性がある。このため、アジスロマイシンを併用することに意味があるであろう。しかしながら、国内ではセフトリアキソン１ｇ投与は十分量であることから現状の推奨を変更する議論は高まっていない。

様々な薬剤に対する淋菌の速やかな耐性化の歴史を考えると、セフトリキソン耐性株が蔓延する危険性は十分にある。より良いレジメの開発が必要である。

参考文献

1）高橋琢理　山岸拓也　齊藤剛仁ほか　増加しつつある梅毒—感染症発生動向調査からみた梅毒の動向— IASR Vol. 35 p. 79-80: 2014年３月号

2）感染症発生動向調査（IASR）梅毒　2008〜2014年 IASR Vol. 36 p. 17-19: 2015年２月号

3）Martin IE, et al. Molecular characterization of syphilis in patients in Canada: azithromycin resistance and detection of Treponema pallidum DNA in whole-blood samples versus ulcerative swabs. J Clin Microbiol. 2009 47:1668-73

4）Katz KA, Klausner JD. Azithromycin resistance in Treponema pallidum. Curr Opin Infect Dis. 2008 21:83–91.

5）Goire N, et al. Molecular approaches to enhance surveillance of gonococcal antimicrobial resistance. Nature Reviews Microbiology. 2014 12, 223-229

6）Ohnishi M, et al. Ceftriaxone-resistant Neisseria gonorrhoeae, Japan. Emerg Infect Dis. 2011 17:148-9.

7）Unemo M, et al. High-level cefixime-and ceftriaxone-resistant Neisseria gonorrhoeae in France:novel penA mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure. Antimicrob Agents Chemother. 2012 56:1273-80.

8）C ámara J, et al. Molecular characterization of two high-level ceftriaxone-resistant Neisseria gonorrhoeae isolates detected in Catalonia, Spain. J Antimicrob Chemother. 2012 67:1858-60.

9）CDC. Update to CDC's Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010:Oral Cephalosporins No Longer a Recommended Treatment for Gonococcal Infections. MMWR 2012 61;590-594.

10）Ison CA, et al. Decreased susceptibility to cephalosporins among gonococci:data from the Gonococcal Resistance to Antimicrobials Surveillance Programme（GRASP）in England and Wales, 2007–2011. Lancet Infect Dis. 2013 13:762-768

バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）

群馬大学大学院医学系研究科　細菌学[1]、
附属薬剤耐性菌実験施設[2]

富田治芳[1,2]、谷本弘一[2]、久留島潤[1]、千葉菜穂子[1]、野村隆浩[1]

■内容

１．VRE の疫学 …… 109
２．VRE の耐性機序 …… 110
　ｉ）バンコマイシンの作用機構と耐性機構 …… 110
　ⅱ）バンコマイシン耐性遺伝子 …… 111
　ⅲ）耐性遺伝子の起源 …… 112
３．VRE の型分類 …… 113
　ｉ）VanA 型 …… 113
　ⅱ）VanB 型 …… 114
　ⅲ）VanC 型 …… 114
　ⅳ）VanD 型 …… 115
　ｖ）VanE 型 …… 115
　ⅵ）VanG 型 …… 115
　ⅶ）VanL 型 …… 115
　ⅷ）VanM 型 …… 115
　ⅸ）VanN 型 …… 115
４．VanA 型耐性 Tn*1546*の遺伝子タイピングと東南アジアに特異的な変異株 …… 116
５．VRE 感染症の診断 …… 116
　ｉ）VRE 検出法と抗菌薬感受性試験 …… 116
　ⅱ）臨床材料から VRE が分離された場合 …… 117
　ⅲ）糞便等検査材料よりの VRE の選択的分離 …… 117
　ⅳ）*van* 遺伝子検出のための PCR …… 118
６．治　　療 …… 119
７．VRE の拡散防止対策 …… 120
おわりに …… 120
参考文献 …… 120

1．VRE の疫学

グリコペプチド系抗菌薬であるバンコマイシン、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おり、特に米国においては MRSA に次ぐ主要な院内感染菌となっている。現在では、先進諸国だけでなく、アジアの近隣諸国を含め世界中に VRE が拡がっている（図１）。また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いる。VRE 感染症のリスク要因として、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

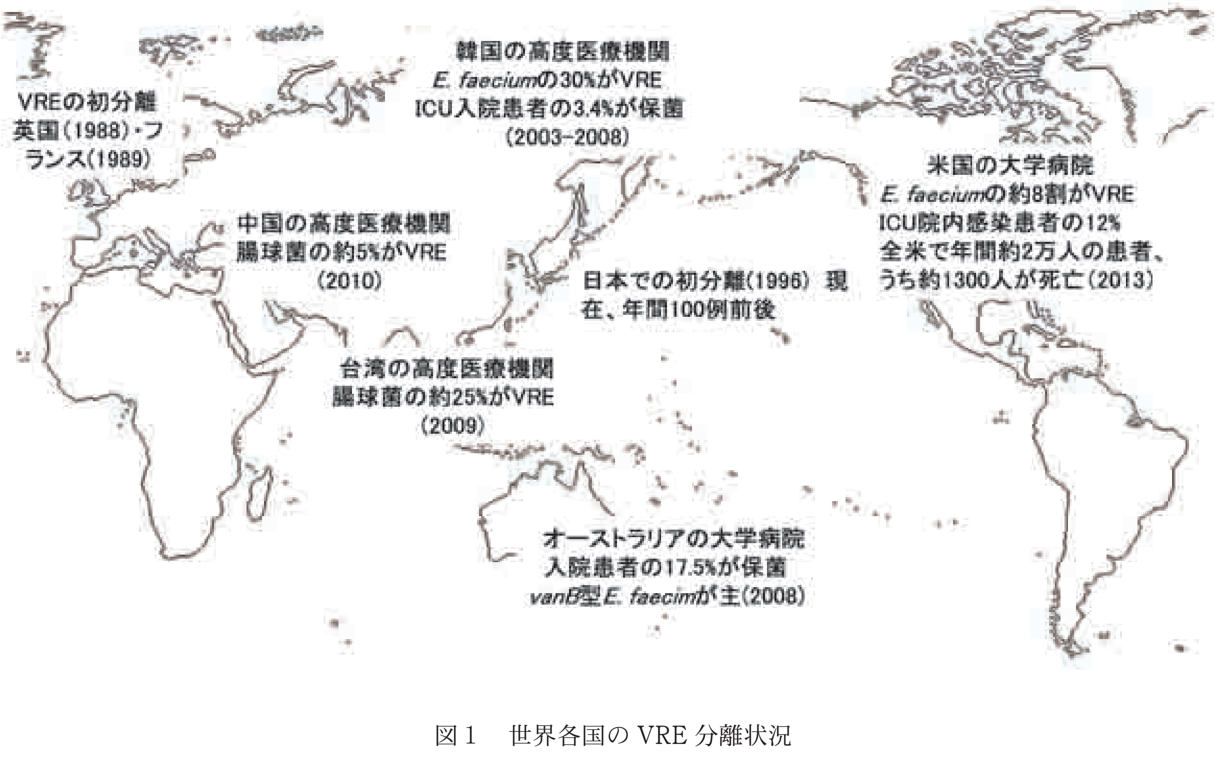


図１　世界各国の VRE 分離状況

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挙げられる。

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。これ以後、何例かの院内感染例を含む VRE の分離が国内の様々の地域から報告されている。1999年以降、VRE 感染症は５類感染症として全数把握の対象となっており、現在は年間100例前後の報告数がある（図２）。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 VRE（*E. raffinosus*、*E. faecium*）がヒトから、また新規の VanN 型 VRE（*E. faecium*）が鶏からそれぞれ複数株、分離されている。

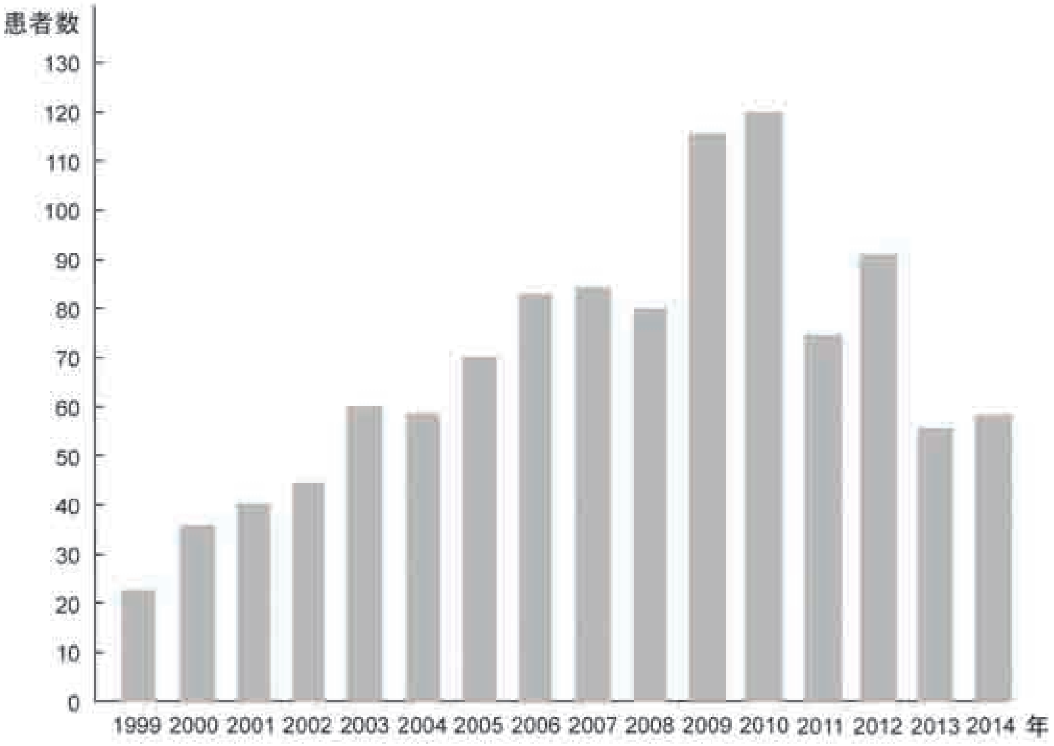


図２　日本の VRE 感染症の患者数（５類感染症の届出数）

２．VRE の耐性機序

ｉ）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-Ala^{1}-γ-D-Glu^{2}-L-Lys^{3}-D-Ala^{4}-D-Ala^{5}（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-Ala^{5}が切られ、４番目のD-Ala^{4}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-Ala^{4}-D-Ala^{5}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-Ala^{4}-D-Ala^{5}部分の５番目のD-Ala^{5}がD-lactate（乳酸）、またはD-serine（セリン）に置換され-D-Ala^{4}-D-$lactate^{5}$あるいは-D-Ala^{4}-D-$serine^{5}$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-$lactate^{5}$あるいは-D-$serine^{5}$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。

ⅱ）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Tn*1546*（10,851bp）中に存在する（図３A）。バンコマイシン耐性遺伝

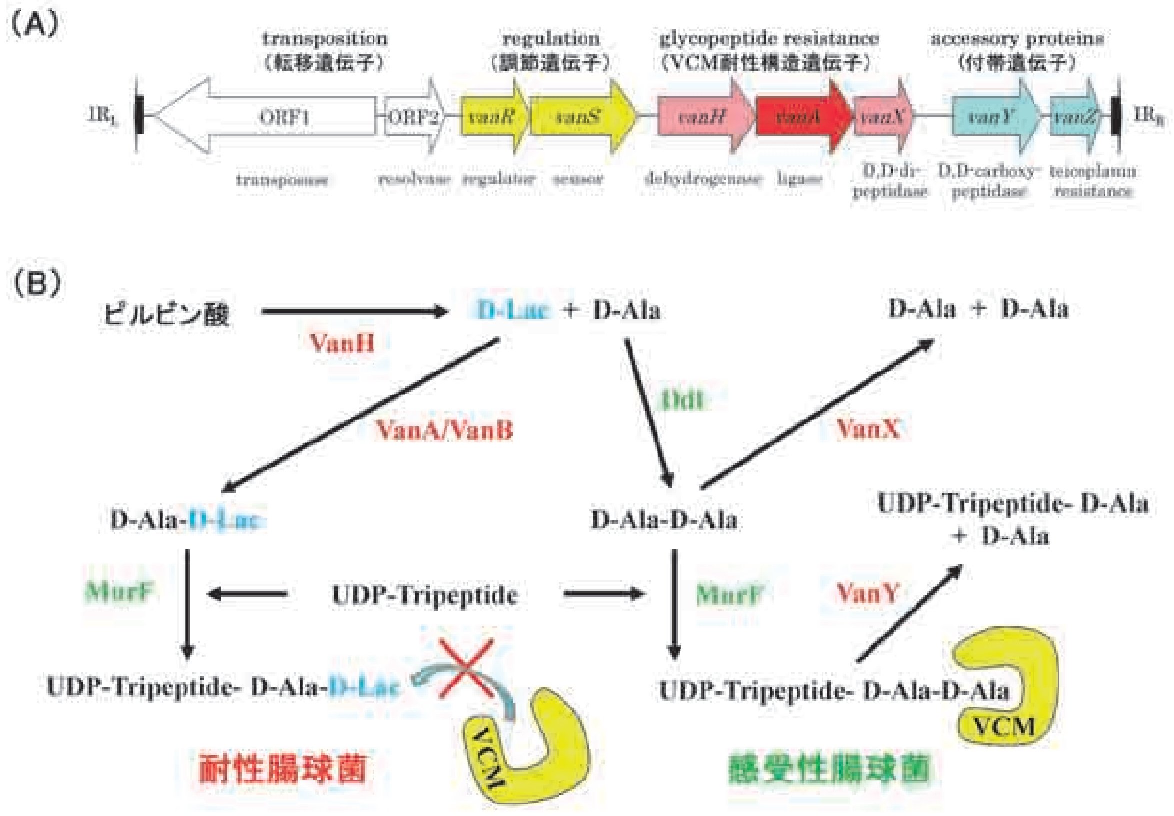


図３　VanA型耐性トランスポゾンTn*1546*の構造（A）と各耐性遺伝子酵素の機能（B）

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-Ala^{4}-D-lactate^{5}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-Ala^{4}-D-Ala^{5}から末端の D-Ala^{5}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-Ala^{4}-D-lactate^{5}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（図３Ｂ）。

ⅲ）耐性遺伝子の起源

一般的に抗生物質に対する特異的な高度耐性遺伝子の起源は、その抗生物質を生産する生物種（その多くはグラム陽性細菌である放線菌に属する）が自ら分泌する抗菌物質に対して自身を守るために保持している免疫（耐性）機構であると考えられている。バンコマイシンなどのグリコペプチド系抗生物質を生産し分泌する放線菌 *Streptomyces toyacaensis* や *Amycolatopsis orientalis* は自ら作り出す抗菌物質に耐性となるための遺伝子群を保持していることが解っている（図４下）。これらは VRE の耐性遺伝子の *vanH*、D-Ala：D-Ala ligase（*ddl*）、*vanX* であり、VanA, VanB, VanC, VanD の各型耐性遺伝子群の同名の遺伝子と相同性があることから機能的に同等と考えられ、その構成順も同一である。さらに以前は *Bacillus* 属に分類されていた環境細菌の一つ *Paenibacillus popilliae* が VRE の Van 遺伝子群と類似した VanF 型耐性遺伝子を保持していることが明らかとなった（図４中）。放線菌属の宿主 DNA の GC 含有量は一般的に60％以上と高く、先のグリコペプチド生産放線菌の耐性遺伝子領域 DNA の GC 含有量は65％前後である。これに対し、腸球菌は低 GC 含量生物種であり、*E. faecalis* で約38％、*E.*

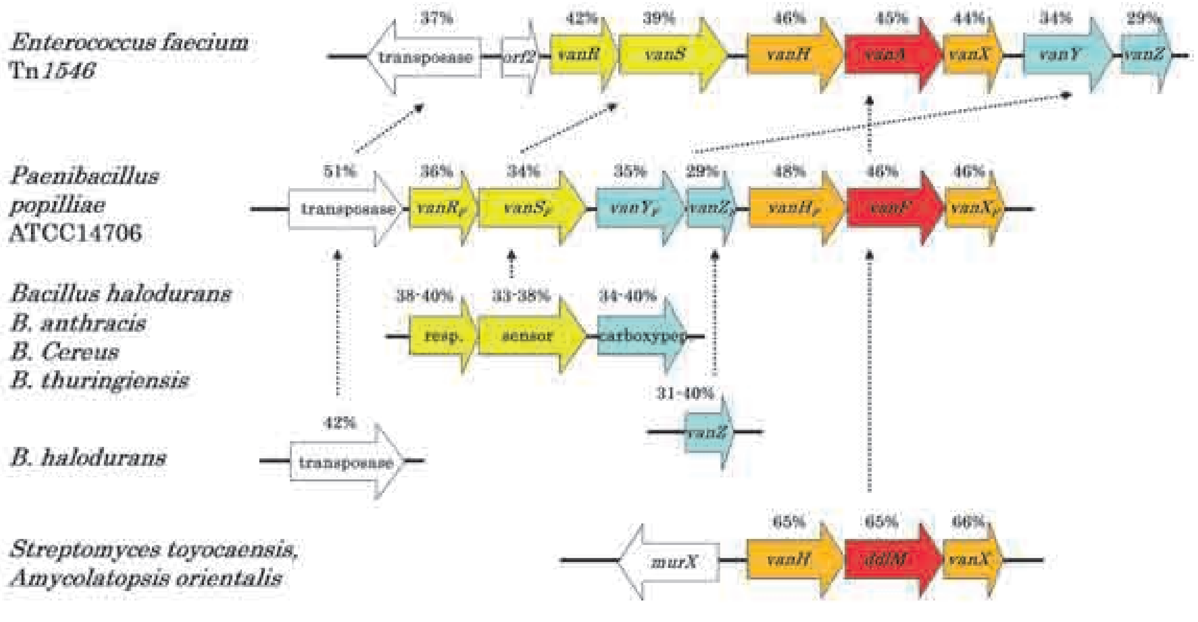


図４　バンコマイシン耐性遺伝子の起源

faecium で約39％である。しかしながら、VRE の各 Van 型遺伝子領域は GC 含量45-50％と宿主本来の GC 含量に比べ著しく高くなっている。また *P. popilliae* の GC 含量は45-50％であり、この菌に見出された VanF 型耐性遺伝子領域の GC 含量は47％前後であった。これらの事実から、おそらく放線菌を起源とする耐性遺伝子が環境細菌を経由し、最終的に腸球菌によって獲得されたと考えられている（図４上)。異なる菌種によって獲得された耐性遺伝子は宿主菌に適応しつつ（GC 含量低下やコドン使用頻度など)、この過程において各種の耐性型が生じたと考えられる。また調節遺伝子もこの進化の過程で耐性遺伝子の構成要素として組み込まれたものと推察されている。これまでに腸球菌の VanA 型耐性トランスポゾン Tn*1546*を構成する遺伝子のうち放線菌を起源とする先の *vanH*, D-D ligase gene（*ddl*), *vanX* 以外の遺伝子は、*Bacillus* 属菌に見出された二成分制御系遺伝子、*vanZ* 遺伝子、トランスポゾン転移遺伝子がその起源であることが相同性の解析結果から示されている。また VanE 型、VanN 型はそれぞれ VanC 型とその遺伝子構成が類似していることから、元来 VanC 型を染色体上に保持している *E. gallinarum, E. casseliflavus, E. flavescens* を起源とする耐性遺伝子が後に *E. faecalis* や *E. faecium* に獲得されたものと考えられている。

３． VRE の型分類

バンコマイシン耐性遺伝子はこれまでのところＡ、Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｅ、Ｇ、Ｌ、Ｍ、Ｎの９つのタイプ（型）が報告されている（表１、図５)。それぞれの結合酵素（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。各 Van 型について以下に述べる。

ｉ）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 Tn*1546*上の二成分制御系によって環境中のグリコペプチド系

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) バンコマイシン	一般的な耐性度 MIC (μg/ml) テイコプラニン	耐性の発現誘導	伝達性	転移因子	遺伝子の存在部位	主な分離菌種
VanA	*vanA*	D-Ala-D-Lac	64－>1000	16－512	あり	あり	Tn*1546*	プラスミド/染色体	*E. faecalis* *E. faecium* *S. aureus* (MRSA)
VanB	*vanB*	D-Ala-D-Lac	4－>1000	0.5－1	あり	あり	Tn*1549*/*5382*	プラスミド/染色体	*E. faecalis* *E. faecium*
VanC	*vanC1*	D-Ala-D-Ser	2－32	0.5－1	なし	なし		染色体	*E. gallinarum*
	vanC2	D-Ala-D-Ser	2－32	0.5－1	なし	なし		染色体	*E. casseliflavus*
	vanC3	D-Ala-D-Ser	2－32	0.5－1	なし	なし		染色体	*E. flavescens*
VanD	*vanD*	D-Ala-D-Lac	16－128	2－64	なし	なし?		プラスミド/染色体	*E. faecium, E. faecalis* *E. raffinosus*
VanE	*vanE*	D-Ala-D-Ser	8－32	0.5	あり	なし		染色体	*E. faecalis*
VanF	*vanF*	D-Ala-D-Lac	>1000	<0.5	あり	不詳		染色体	*Paenibacillus popilliae*
VanG	*vanG*	D-Ala-D-Ser	16	0.5	あり	あり		染色体	*E. faecalis*
	$vanG_{Cd}$	D-Ala-D-Ser	<3	<3	あり	なし		染色体	*Clostridium difficile*
VanL	*vanL*	D-Ala-D-Ser	<16	<2	あり	なし		染色体	*E. faecalis*
VanM	*vanM*	D-Ala-D-Lac	>256	>64	あり	あり		プラスミド/染色体	*E. faecium*
VanN	*vanN*	D-Ala-D-Ser	<16	<1	なし	あり		プラスミド	*E. faecium*

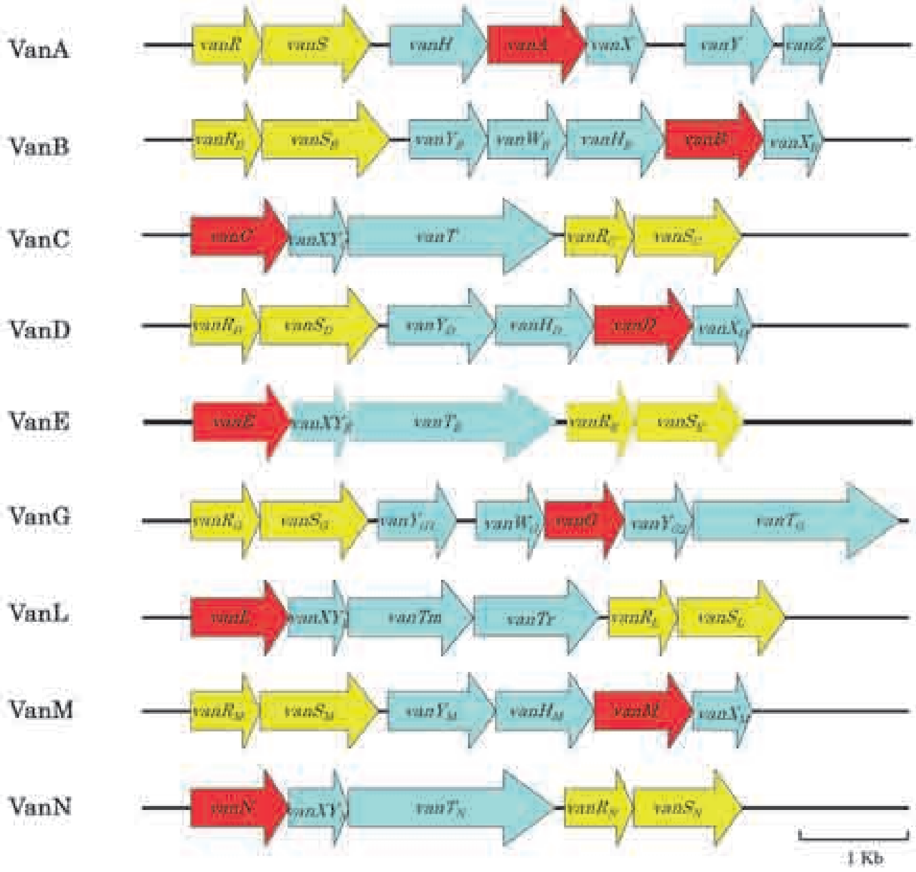


図５　各種バンコマイシン耐性型の遺伝子構造

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-Ala^{4}-D-lactate^{5}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。

ⅱ）VanB 型：*E. faecium*、*E. faecalis*、*E. gallinarum* で分離されている。通常 Tn*1549*（34kb）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-Ala^{4}-D-lactate^{5}を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。近年、国内において VanB 型耐性遺伝子を保有しているにもかかわらず、バンコマイシン感受性あるいは低度耐性（MIC ＜16㎎/L）を示す株がしばしば臨床から分離されており、今後の動向に注意する必要がある。

ⅲ）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-Ala^{4}-D-serine^{5}を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。VanC 型の自然耐性菌においても感受性菌が生産する D-Ala:

D-Ala 結合酵素（ligase）と D-Ala：D-serine 結合酵素（ligase）の両者を生産すると考えられている。

ⅳ）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-Ala^{4}-D-lactate^{5}を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。国内では2006年に初の VanD 型 VRE（*E. raffinosus*）が分離されたが（千葉県)、それ以降、分離報告は無かった。しかし、2015年に国内２例目となる VanD 型 VRE（*E. faecium*）が患者から分離されている（広島県)。

ⅴ）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-Ala^{4}-D-serine^{5}を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。

ⅵ）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-Ala^{4}-D-serine^{5}を末端に持つペプチドグリカン前駆体を形成する。尚、臨床から分離される *C. difficile* 菌の一部にこの VanG 型類似の耐性遺伝子が存在することが報告されているが、今のところ *C. difficile* 菌の耐性化は認められていない。

ⅶ）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-Ala^{4}-D-serine^{5}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㎎/Ｌ)。テイコプラニンについての記載は無いが、serine を末端に付加するグループに属することから感受性であると考えられる。バンコマイシンに対する耐性はバンコマイシンによって誘導される。接合伝達による耐性の伝達が観察されなかったことから、耐性遺伝子は染色体上に存在すると考えられている。

ⅷ）VanM 型：*E. faecium* が中国で複数株が報告されている。D-Ala と D-lactate から -D-Ala^{4}-D-lactate^{5}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。

ⅸ）VanN 型：*E. faecium* がフランスと我が国で分離されている。-D-Ala^{4}-D-serine^{5}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。国内では食肉（鶏肉）からの分離報告はあるが、ヒトからの分離はない。

4．VanA型耐性Tn*1546*の遺伝子タイピングと東南アジアに特異的な変異株

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Tn*1546*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。国内で分離された株のTn*1546*のDNA塩基配列を調べた結果、プロトタイプ（図3A）の他に、遺伝子の塩基置換や欠失、挿入配列（IS*1216V*、IS*256*、IS*1542*、IS*1251*）、ISの挿入に伴う欠失が認められ、それらの有無により、10種以上の変異型Tn*1546*が見つかっている。これらのうちアミノ酸置換を伴う*vanS*内の3箇所の変異によって、テイコプラニンに低度耐性あるいは感受性となるVanB型形質に類似したVanA型VRE株がしばしば分離される。これと同一の変異を持つVanA型VRE株がタイ産鶏肉から高頻度で分離されることから、輸入鶏肉を介してこの変異型VREが国内に伝播、拡散したことが推測されている。同一の変異型耐性株が台湾のヒトと家畜から高頻度で分離されることからも、この変異株は東南アジア地域に特異的なVREと考えられる。

5．VRE感染症の診断

ｉ）VRE検出法と抗菌薬感受性試験

ａ．臨床分離されるバンコマイシン感受性腸球菌のVCMのMICは1㎎/L以下である。

ｂ．VCMのMICが4㎎/L以下の場合を感受性、8-16㎎/Lを判定保留、32㎎/L以上を耐性とする。

ｃ．VREを検出するために液体培地を用いる時、VCMの最低濃度は3～4㎎/Lが望ましい。

ｄ．VanA型VRE（主に*E. faecium*）の多くはVCM、PC、GMに高度耐性である。

ｅ．VanA型VRE、VanB型VREの治療のための感受性抗菌薬を調べる時にはグラム陽性菌に有効と考えられる全ての薬剤を調べる必要がある。

ｆ．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。

ｇ．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。

ｈ．VREとして分離頻度が高いVanA型VREとVanB型VREを区別するための簡便法として、バンコマイシンとテイコプラニンのそれぞれに対する感受性、典型的な表現形の違いを利用したディスク法が用いられる（図6）。ただし、前述のようにテイコプラニンに感受性あるいは低度耐性を示す特殊な変異VanA型VREが国内に存在することに注意が必要である。

図６　ディスク法（バンコマイシン・テイコプラニン）による VRE の確認

ⅱ）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１-10μℓをバンコマイシン６㎎/Ｌ添加 BHI（Brain Heart Infusion）寒天培地に接種し、35〜37℃、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㎎/Ｌ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。

ⅲ）糞便等検査材料よりの VRE の選択的分離

ａ．培地：Enterococcosel agar（BBL)、または VR-EF 寒天培地（ニッスイ製薬)、等を選択培地として用いる。

ｂ．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㎎/Ｌを含む Enterococcosel broth（BBL）を10ml 加え35〜37℃にて終夜培養する。その後、バンコマイシン６㎎/Ｌを含む上記寒天培地上に菌液100μℓ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㎎/Ｌ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。

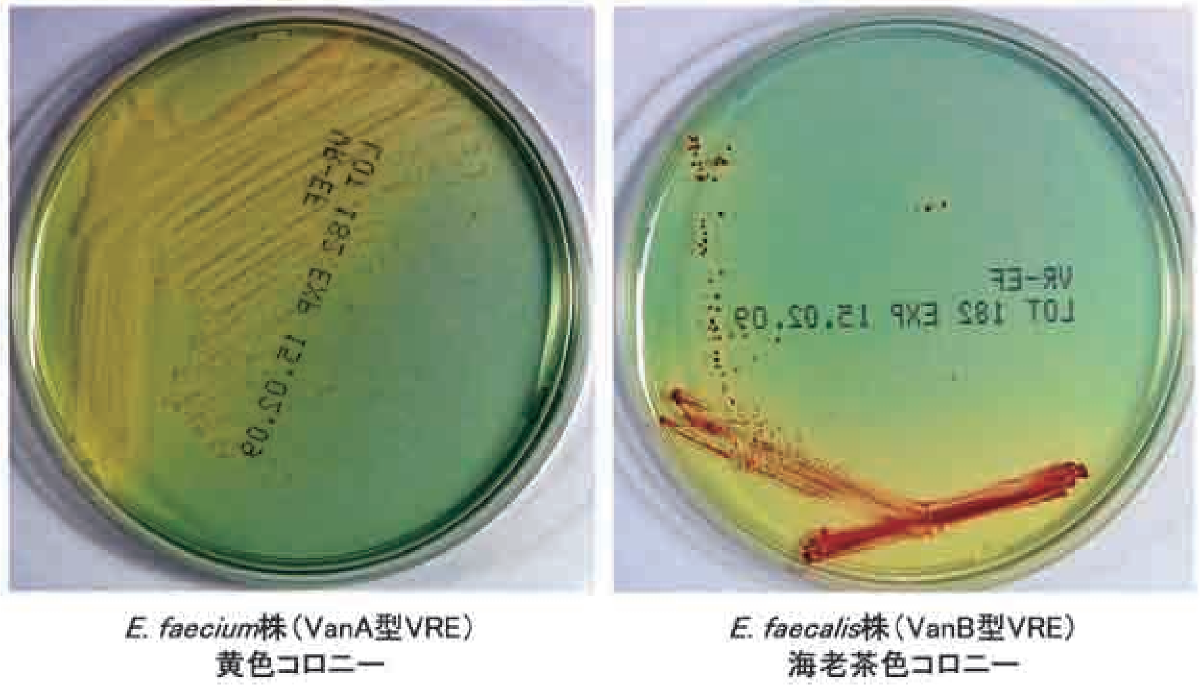


図７　VR-EF 寒天培地（ニッスイ製薬）

ｃ．２日間35～37℃にて培養する。

ｄ．Enterococcosel agar を用いた時、直径0.5～1.5㎜程度の黒または黒灰色のコロニー、VR-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。

ⅳ）*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型は中国で報告があるだけであり、またＤ型も我が国では現時点で数株のみ分離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（図８）。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。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場合は別々の single PCR 反応によって型別を行う。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う。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う。PCR に用いる鋳型 DNA として我々は菌体から ISOPLANT（ニッポンジーン社／和光純薬）を使って DNA を抽出し、用いている。PCR サンプルとして煮沸処理し

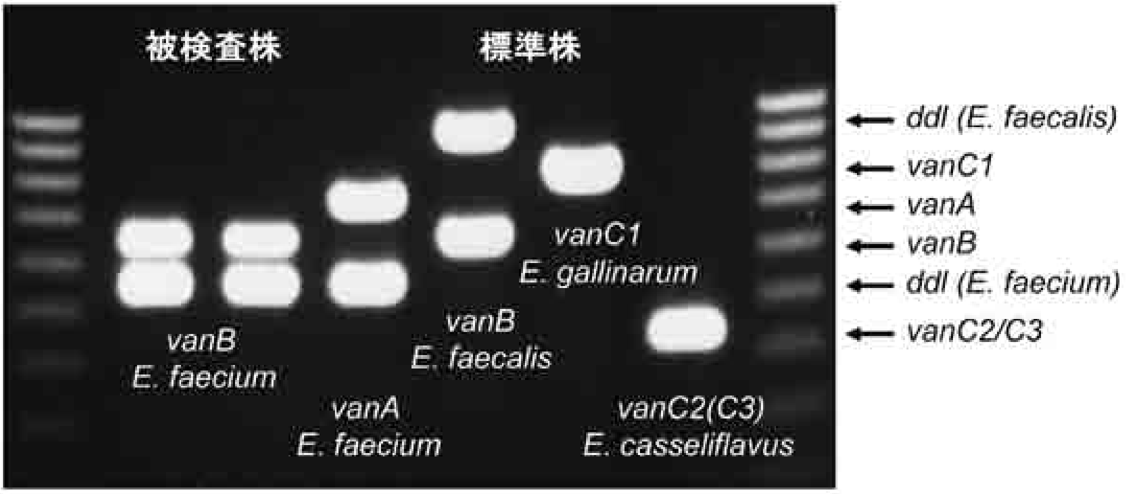


図８　マルチプレックス PCR による VRE 同定方法の実際

表２　主な *van* 遺伝子検出と菌種同定のための 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)
vanA	VanA A1 VanA A2	GGGAAAACGACAATTGC GTACAATGCGGCCGTTA	175-191 907-891	732
vanB	VanB B1 VanB B2	ATGGGAAGCCGATAGTC GATTTCGTTCCTCGACC	173-189 807-791	635
vanC1	VanC1 C1 VanC1 C2	GGTATCAAGGAAACCTC CTTCCGCCATCATAGCT	246-272 1067-1051	822
vanC2 vanC3	VanC2/3 D1 VanC2/3 D2	CTCCTACGATTCTCTTG CGAGCAAGACCTTTAAG	455-486 885-869	439
ddl E. faecalis	*E. faecalis* DDL E1 *E. faecalis* DDL E2	TCAAGTACAGTTAGTCTT ACGATTCAAAGCTAACTG		941
ddl E. faecium	*E. faecium* DDL F1 *E. faecium* DDL F2	GCAAGGCTTCTTAGAGA CATCGTGTAAGCTAACTTC		550

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）

た浮遊菌液や直接コロニーを用いる方法もあるが、正しく検出されないことも多く、可能な限り精製された DNA を用いるのが望ましい。

６．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）や 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。

７．VREの拡散防止対策

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。

おわりに

腸球菌は腸管内常在菌であるために、抗菌薬の選択圧がかかりやすく、また水平伝播による遺伝子獲得機構によって耐性化しやすい菌である。そのため高度先進医療が行なわれ易感染宿主が増加した医療現場では多剤耐性化した腸球菌、特にVREが深刻な問題となっている。幸いなことに欧米や近隣諸国と比較し、国内においてはVRE感染症の発生は、現在、年間100例程であるが、今後VREによる院内感染症の増加が危惧される。現時点においてVRE感染を認めない病院であっても、VRE感染症やVRE分離が多数認められる地域の病院であるならば、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なされている患者や、基礎疾患を持っていたり超高齢であるなどの易感染状態で手術予定の患者では、事前の検便検査を考慮する必要があろう。現在、国内でのVRE対策として重要なことは、抗菌薬の適正使用を厳格に行なうとともに、病院内で早期にVRE保菌者を発見し、適切な接触予防策を講じることによって、VREの増加と拡散を防ぐことである。

参考文献

１）Clewell DB, et al. 2014. Extrachromosomal and mobile elements in eneterococci: transmission, maintenance, and epidemiology. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, editors. Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection. {Internet}. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary;
２）Arthur, M, P Courvalin. 1993. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. Antimicrob Agents Chemother. 37: 1563-1571.
３）Courvalin, P. 2006. Vancomycin resistance in gram-positive cocci. Clinical Infectious Diseases 42: S25-S34.
４）Kak, V, JW Chow. 2002. Acquired antibiotic resistances in enterococci. The Enterococci. Gilmore MS, et al eds. ASM press.
５）Willem, RJ, et al. 2005. Global spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from distinct nosocomial genetic complex. Emerging Infectious Diseases 11: 825-828.

6) Patel, R, et al. 2000. The biopesticide *Paenibacillus popilliae* has a vancomycin resistance gene cluster homologous to the enterococcal VanA vancomycin resistance gene cluster. Antimicrob Agents Chemother. 44: 705-709.
7) Dutka-Malen, S, S Evers, P Courvalin. 1995. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. J Clin Microbiol. 33: 24-27.
8) Drews, SJ, et al. 2006. 24-hour screening protocol for identification of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. J Clin Microbiol. 44: 1578-1580.
9) Kristich, CJ, LB Rice, CA Arias. 2014. Enterococcal infection-treatment and antibiotic resistance. Enterococci. Gilmore MS, et al eds. ASM press.
10) Fujita, N, et al. 1998. First report of the isolation of high-level vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from a patient in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 42: 2150.
11) Ike, Y, et al. 1999. Vancomycin-resistant enterococci in imported chickens in Japan. Lancet 353: 1854.
12) Hashimoto, Y, et al. 2000. Amino acid substitutions in the VanS sensor of the VanA-type vancomysin-resistant *Enterococcus* strains result in high-level vancomycin resistance and low-level teicoplanin resistance. FEMS Microbiol Lett. 185: 247-254.
13) Ozawa Y, et al. 2002. Vancomycin-resistant enterococci in humans and imported chickens in Japan. Appl Environ Microbiol. 68: 6457-6461.
14) Tomita, H, et al. 2003. Highly conjugative pMG1-like plasmids carrying Tn*1546*-like transposons that encode vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*. J Bacteriol. 185: 7024-7028.
15) Tanimoto, K, et al. 2006. First VanD-type vancomycin-resistant *Enterococcus raffinosus* isolate. Antimicrob Agents Chemother. 50: 3966-3967.
16) Zheng B, et al. 2009. Isolation of VanB-type *Enterococcus faecalis* strains from nosocomial infections. Antimicrob Agents Chemother. 53: 735-747.
17) Nomura, T, et al. 2012. Identification of VanN-type vancomycin resistance in an *Enterococcus faecium* isolates from chicken meat in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 56: 6389-6392.

Clostridium difficile 感染症について

国立感染症研究所　細菌第二部

加　藤　は　る

■内容

１．*Clostridium difficile* 感染症（CDI）はどんな疾患か …… 122
⑴　抗菌薬関連下痢症・腸炎 …… 122
⑵　CDI の臨床症状 …… 123
⑶　CDI と医療関連感染 …… 123
２．*Clostridium difficile* と CDI の細菌学的検査 …… 123
⑴　*Clostridium difficile* はどんな細菌か …… 123
⑵　BI/NAP1/027株について …… 124
⑶　日本での臨床分離株 …… 124
⑷　細菌学的検査のための検体採取と検査依頼 …… 124
⑸　細菌学的検査と結果の読み方 …… 125
⑹　新しい細菌学的検査法 …… 125
３．CDI の治療 …… 126
⑴　抗菌薬治療 …… 126
⑵　抗菌薬以外の治療法 …… 126
⑶　治療を行う上で重要なこと …… 126
４．CDI の感染対策 …… 127
⑴　モニタリング …… 127
⑵　宿主側のリスクを軽減 …… 127
⑶　感染経路を遮断 …… 127

１．*Clostridium difficile* 感染症（CDI）はどんな疾患か

⑴　抗菌薬関連下痢症・腸炎

Clostridium difficile 感染症（CDI）は、抗菌薬により消化管細菌叢が撹乱された際に認められる抗菌薬関連下痢症・腸炎として発症することが多い。しかし、すべての抗菌薬関連下痢症・腸炎において *C. difficile* が原因ではないため、CDI の診断には、細菌学的検査が必要である。偽膜性大腸炎（pseudomembranous colitis）は、内視鏡検査、外科手術、あるいは剖検所見で、消化管に偽膜形成が観察された場合に診断される病理学的診断名である。偽膜性腸炎であれば CDI と診断できるが、偽膜形成の認められない CDI は多いため、内視鏡で偽膜形成が認められなかったからといって CDI を否定できない。

⑵　CDI の臨床症状

①　まれには *C. difficile* による膿瘍などの症例報告があるが、ほとんどは消化管感染症である。

②　軽度の下痢症状から、消化管症状に発熱や白血球増多などを伴う状態、さらには、中毒性巨大結腸（toxic megacolon）、イレウス、消化管穿孔などにより緊急手術が必要になる状態、CDI が直接原因で死亡する場合まで、症状が幅広いことが特徴である。

③　再発する症例が少なくなく、再発を繰り返す症例では、特に治療に難渋する。

⑶　CDI と医療関連感染

①　*C. difficile* は芽胞の状態で医療環境に長く生存し続け、医療関連感染の原因となる。

②　いちど院内アウトブレイクが発生すると、終息は容易ではない。

2．*Clostridium difficile* と CDI の細菌学的検査

⑴　*Clostridium difficile* はどんな細菌か

C. difficile は、偏性嫌気性グラム陽性桿菌で、芽胞形成菌である。本菌の産生する毒素 toxin A と toxin B は、その病原性に大きな役割を果たしている。Toxin A と toxin B をコードしている遺伝子（*tcdA* と *tcdB*）は、調節遺伝子とともに pathogenicity locus（PaLoc）とよばれる chromosome 上の遺伝子座に位置する。Toxin A も toxin B も産生しない菌株には PaLoc 自体が存在しない。第三の毒素ともいわれる binary toxin（CDT）をコードする遺伝子は、*tcdA*、*tcdB* と同様に chromosome 上にあるものの、PaLoc 上には存在しない。多くの臨床分離株は、toxin A 陽性 toxin B 陽性 CDT 陰性（$A^+B^+CDT^-$）、toxin A 陰性 toxin B 陽性 CDT 陰性（$A^-B^+CDT^-$）、toxin A 陽性 toxin B 陽性 CDT 陽性（$A^+B^+CDT^+$）、toxin A 陰性 toxin B 陰性 CDT 陰性（$A^-B^-CDT^-$）に大きく分けられる。Toxin A 陰性 toxin B 陰性株（毒素非産生株）による偽膜性腸炎症例やアウトブレイク事例の報告はないため、少なくとも、素非産生株のみが分

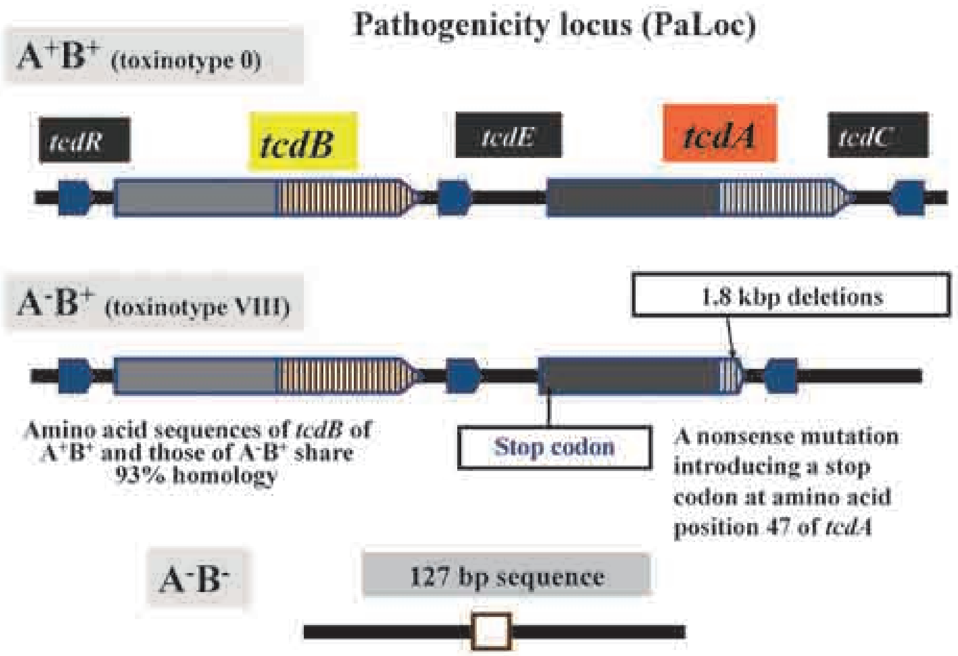


図 1　*Clostridium difficile* の pathogenicity locus（PaLoc）

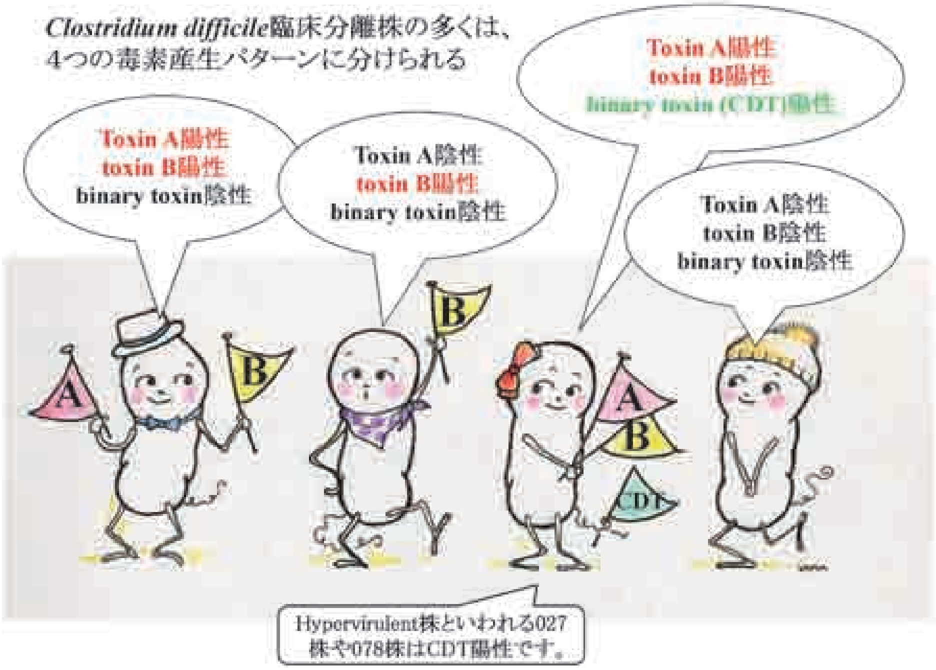


図２　*Clostridium difficile* 臨床分離株における毒素産生性

離された下痢症例ではバンコマイシン等による積極的治療は必要ないと考えられる。また、後述の BI/NAP1/027株を含めて、CDT 陽性株による CDI は、CDT 陰性株による感染より重篤な症状が認められるという報告があるが、臨床検査として糞便検体から CDT 検出を行うことに意義があるかどうかは議論のあるところである。

⑵　BI/NAP1/027株について

北米やヨーロッパの一部の国において、1990年代までは散発例からのみ認められていたタイプの菌株が、2000年頃より流行株として認められるようになった。Restriction endonuclease analysis（REA）により type BI、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）解析により NAP1、PCR ribotyping により type 027とタイプされ、BI/NAP1/027とよばれる。本タイプに属す菌株は toxin A陽性 toxin B陽性 CDT 陽性である。

⑶　日本での臨床分離株

日本では、BI/NAP1/027株は散発例には認められるものの、現在のところ、本タイプ菌株によるアウトブレイク事例は報告されていない。しかしながら、BI/NAP1/027株が流行・優勢でないことが、日本で CDI が問題となっていないことに結論づけられるわけではない。日本では、PCR ribotype smz（$A^{+}B^{+}CDT^{-}$）株および PCR ribotype trf（$A^{-}B^{+}CDT^{-}$）株が endemic であると同時に、アウトブレイクにおける流行株として、いくつかの医療機関から報告されている。現在のところ国としてのサーベイランスは行われておらず、感染実態が明らかとは言い難い。

⑷　細菌学的検査のための検体採取と検査依頼

①　検体採取

下痢や腹痛などの消化管症状が認められ、CDI を疑った患者から糞便検体を採取する。必ずバンコマイシンやメトロニダゾール等の CDI 治療を開始する前に行う。治療の経過チェック目的、隔離解除の指標としては検査を行わないことが基本である。

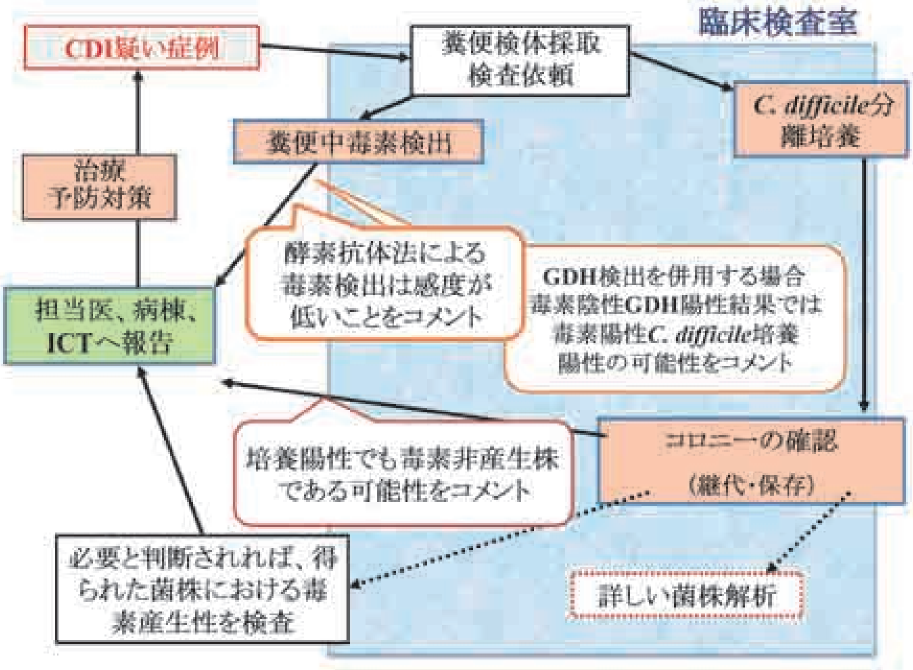


図３　細菌学的検査フローチャート

②　細菌学的検査依頼

CDI を疑い検査依頼をする場合、特に培養検査では *C. difficile* 培養目的であることを検査室に伝える必要がある。CDI 疑い患者において、目的の明確でない「嫌気培養検査」「好気培養検査」は行う意義がないと考えられる。

⑸　細菌学的検査と結果の読み方

①　糞便中毒素（toxin A および toxin B）検出

酵素抗体法による市販の迅速検査キットは、施行が迅速で簡便であるが、本法は感度が低いことが指摘されている。

②　糞便中グルタメートデヒドロゲナーゼ（GDH）検出

糞便検体中毒素検出の低い感度を補うために、毒素（toxin A及び toxin B同時検出）と組み合わせて使用される。

③　*C. difficile* 培養検査

感度が高く、分離菌株において毒素産生性を調べれば特異度も高い。民間検査センターに検査委託する場合は、検査報告に時間がかかる。また、*C. difficile* の培養検査は難しいものではないが、検査室によって培養技術が異なると検出感度に差が認められる場合がある。

④　どう検査結果を読むか

糞便中毒素陽性であれば、CDI と診断できるが、毒素陰性であっても毒素産生性 *C. difficile* が分離されることは少なくない。GDH 陰性であれば、CDI は否定的と考えられるが、CDI の原因となる *C. difficile* 菌株によっては GDH 検出感度が高くない場合があると報告されている。糞便検体で「毒素陰性 GDH 陽性」の場合は、他の検査を行う、他の検査ができない場合は毒素産生性 *C. difficile* 陽性である可能性を考えて治療・感染対策を考える等の対応が必要である。

⑹　新しい細菌学的検査法

糞便検体中の *C. difficile* の毒素遺伝子を PCR 等により増幅検出する遺伝子検査（nucleic acid

amplification test, NAAT）が、日本の医療現場にも近い将来導入される。施行が迅速・簡便で、感度が良好であるが、１試験あたりのコストが高く、過剰診断との評価もある。遺伝子検査を行うにあたっては、適切な臨床診断と適切な検査依頼が今まで以上に必要となる。また、BI/NAP1/027株の存在を推定する遺伝子検査の導入にあたっては、日本では本菌株が優勢株でも流行株でもないことを念頭にいれ、「BI/NAP1/027株による感染ではないので重症化しない」「BI/NAP1/027株による感染でなければアウトブレイクにはならない」といった誤った判断をしないようにしなければならない。

３．CDI の治療

⑴　抗菌薬治療

CDI の誘因となったと考えられる抗菌薬をまず中止か変更する。その対応により症状の回復が認められない場合は、メトロニダゾール内服あるいはバンコマイシン内服を開始する。メトロニダゾールやバンコマイシンよりも消化管細菌叢を撹乱しにくい、フィダキソマイシンに代表される新しい CDI 治療薬も近い将来導入される。CDI 以外の感染症治療を続けなければならない等の再発リスクの高い症例への使用が期待される。

⑵　抗菌薬以外の治療法

イレウスや消化管穿孔など重篤な合併症を伴う場合は外科手術が必要になる。繰り返す再発の治療にはモノクロナル抗体治療や糞便治療（FMT）が有効であったと報告されている。

⑶　治療を行う上で重要なこと

CDI が疑われた下痢症例では、ロペラマイド等の消化管蠕動を止める薬剤の使用は避ける。入院患者では無症候に *C. difficile* を消化管に保有している患者が少なくないが、無症候キャリアは治療するべきではない。

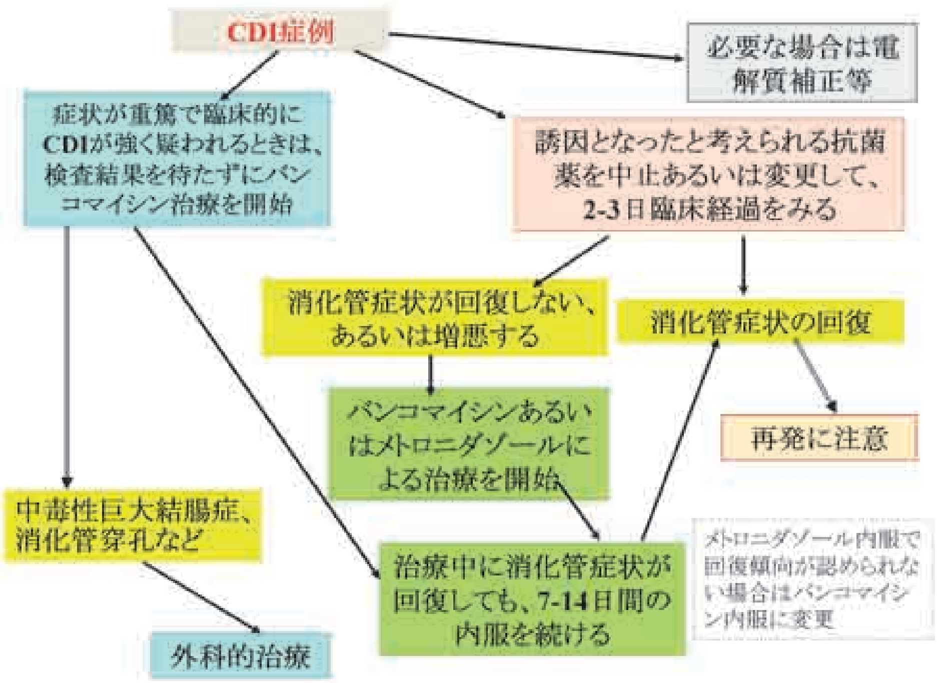


図４　治療フローチャート

４．CDIの感染対策

⑴　モニタリング

CDIは、医療関連感染として重要であり、入院患者で症例数ゼロにはならない感染症である。医療機関あたり、病棟あたりで10,000patient-daysあたりのCDI発症率をモニタリングしていくことで、アウトブレイク発生を早期に察知できる。

⑵　宿主側のリスクを軽減

広域スペクトラムの抗菌薬、および、バクテロイデス属菌等の偏性嫌気性菌に有効な抗菌薬が、消化管細菌叢を撹乱するため、CDIの誘因となりやすいと考えられる。医療機関全体で抗菌薬適正使用に取り組むことがCDI感染対策に大きな効果をもたらすことは多くの報告から明らかである。ワクチンによる感染予防については臨床試験が行われつつあり期待される。

⑶　感染経路を遮断

*C. difficile*は芽胞の状態ではアルコール等の消毒薬に耐性であるため、手指衛生は流水と石けんによる手洗いが基本であり、速乾性擦り込み式アルコール製剤は手洗いの後に使用する。CDIと診断された患者には接触予防策を開始するが、標準予防策への変更の決定は細菌学的検査結果によって判断するのではなく、臨床経過から判断する。

多剤耐性結核の分子疫学解析と国際現状

結核予防会大阪病院　診断検査部

松　本　智　成

■内容

多剤耐性結核の現状 …… 128
多剤耐性結核の検査 …… 129
結核菌の分子疫学解析 …… 131
おわりに …… 133
文献 …… 133

多剤耐性結核の現状

今年2014年は多剤耐性結核治療に大きな変化がもたらされた。一つは日本から開発されたデラマニドの欧州並びに日本での承認。さらには岡田等によって開発されてきたワクチンの人での臨床応用研究がいよいよスタートを切った。

多剤耐性結核とは、結核治療に有用なイソニアジド、リファンピシンの少なくとも２剤に耐性の結核である。さらに超多剤耐性結核とはイソニアジド、リファンピシン以外にニューキノロン系抗菌剤、アミノグリコシド系抗菌剤に耐性の結核と定義される [1), 2)]。

超多剤耐性はアフリカのみならずヨーロッパにおいても深刻な状況を引き起こしている。実際、世界保健機関（WHO）は2011年11月14日、従来の抗結核薬が効かない多剤耐性結核や超多剤耐性結核の感染が欧州・中央アジア地域で急速に拡大しており、保健当局が阻止できなければ多くの死者が出ると警告した [3)]。

この為にこれらの結核に対して有効な対策が必要になる。超多剤耐性結核に対する対策は、新たに多剤耐性結核を作らないこと、新薬の開発そしてワクチン開発があげられる。

多剤耐性結核を新たにつくらないために治療の失敗を防ぐため直視下服薬確認 Directly Observed Treatment, Short-course; DOTS が用いられる。これは結核の治療は４剤を少なくとも６ヶ月間という長期服薬をするために脱落や不規則な服薬が生じやすく、それによる耐性化を防ぐため、服薬確認を行う。また多剤耐性結核や超多剤耐性結核の拡大は治療の失敗による新たな菌の出現のみならず既存の菌の感染による拡大も原因となる。この事は最近数は大幅に減少したが今まで抗結核治療を受けたことのない新規結核患者が超多剤耐性結核であった事からも新規感染が起こっていることがわかる。現在では多剤耐性結核感染が起こることは広く受け入れられた事実であるが今から10年以上前は専門家の間にですら受け入れられない事実であった。それはイスコチン耐性結核が katG 遺伝子変異によるカタラーゼ活性低下により引き起こされ、そのカタラーゼ活性低下により感受性結核よりも増殖能が低く感染力が低いという事よりイスコチン耐

性を含む多剤耐性結核も感染力が低いと思われていたからである。事実、我々のデータを見るとイスコチン単独耐性結核は全剤感受性結核よりもクラスター形成率が低くその感染力は低いと推察される。しかしながら多剤耐性結核のクラスター形成率を見ると感受性結核よりも高く、超多剤耐性結核になるとさらにクラスター形成率が上昇し約70％にせまる [4)]。（表１；2001年から2004年に大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターにて培養陽性となった結核菌1629株の薬剤耐性並びに IS6110-RFLP 解析によるクラスター形成率）

表１

2001年から2004年に大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターにて培養陽性となった結核菌1629株の薬剤耐性並びにIS6110-RFLP解析によるクラスター形成率

薬剤耐性	菌株数	クラスター数（クラスター形成率%）	p value*
All susceptible	1403	498 (35.5)	0.519
INH total	145	41 (30.0)	0.137
INH only	48	4 (8.3)	<0.001
INH + α**	31	9 (29.9)	0.535
INH+RFP+α**	66	29(43.9)	0.178
XDR***	29	20(69.0)	<0.001
Others****	3	0	nd
Total	1629	560 (34.4)	

*Comparisons were performed each drug-resistance isolates with total proportions using χ^2 test.

α**: anti-Tb drugs other than RFP

XDR*** is showing resistance RFP and INH, in addition to any fluoroquinolone, and to at least 1 of the 2 following aminoglycosides: kanamycin and capreomycin.

Others****: PZA only, SM+PZA, SM+KM

Ano H, Matsumoto T, and et al. Relationship between the isoniazid-resistant mutation katGS315T and the prevalence of MDR-/XDR-TB in Osaka , Japan Int J Tuberc Lung Dis 2008 12(11):1300-5改変

このデータにより超多剤耐性結核になると治療の失敗というよりも感染拡大により結核が広まっていることが明らかである。多剤耐性結核、特に超多剤耐性結核は、イスコチン耐性遺伝子の katG の315番目のセリンがスレオニンにアミノ酸置換する変異をもつ菌のクラスター形成高値が目立つ。通常、イスコチン耐性結核は katG の変異によりカタラーゼ活性が低下し増殖能が低下する。イスコチンはもともとプロドラッグでありカタラーゼ活性により抗菌活性をもつ薬剤に変化する。しかしながら katG の315番目のセリンがスレオニンにアミノ酸置換する変異は、カタラーゼ活性は保たれたままイスコチンがカタラーゼの触媒部位に近づけなくなるような変異であり通常の結核菌と同等の増殖能、および活性をもつ。従って、この変異をもつ超多剤耐性結核は通常の結核菌と同様の感染力を有すると考えられている。

多剤耐性結核の検査

現時点での結核診断におけるゴールドスタンダードは、検体からの結核菌の培養による検出で

ある。結核診断治療においては問診、画像検査も重要であるがこれらは診断に導く為のスクリーニング検査の一つでしかない。特に臨床現場においては、問診、身体所見、画像検査により結核を含めた抗酸菌感染症をうたがい、喀痰塗抹検鏡検査、培養同定、培養および薬剤感受性試験の一連の診断の流れが必須である。従って臨床現場においては、培養による菌の検出を介して薬剤感受性試験につとめなければならない。特に多剤耐性結核診療においてINH、RFP両薬剤耐性の確認をもって診断が確定する訳であるから上記診断の流れは必須である。

しかしながら、結核菌は、増殖が遅く陽性所見が得られるまで小川固形培地にて早くて約4週間、通常は6-8週間かかる。増殖が早いといわれている液体培地でも通常7-14日ぐらい要する。従って、菌遺伝子検出ならびに薬剤耐性責任遺伝子変異検出による迅速検査が望まれる。次世代シークセンサーの発達により遺伝子情報と薬剤感受性情報の相関が明らかになってくると、将来的には遺伝子検査で全ての治療に必要な情報が得られるはずである。しかしながら、現時点では、時間面、コスト面において時期早々である。

XDR-TBの集団感染が報告されている現在において迅速に感受性を判定し早期に診断する事は重要である。また、日常臨床現場において喀痰抗酸菌塗抹陽性患者の場合に非結核性抗酸菌症であるか結核症であるかの迅速な判断が必要とされる。

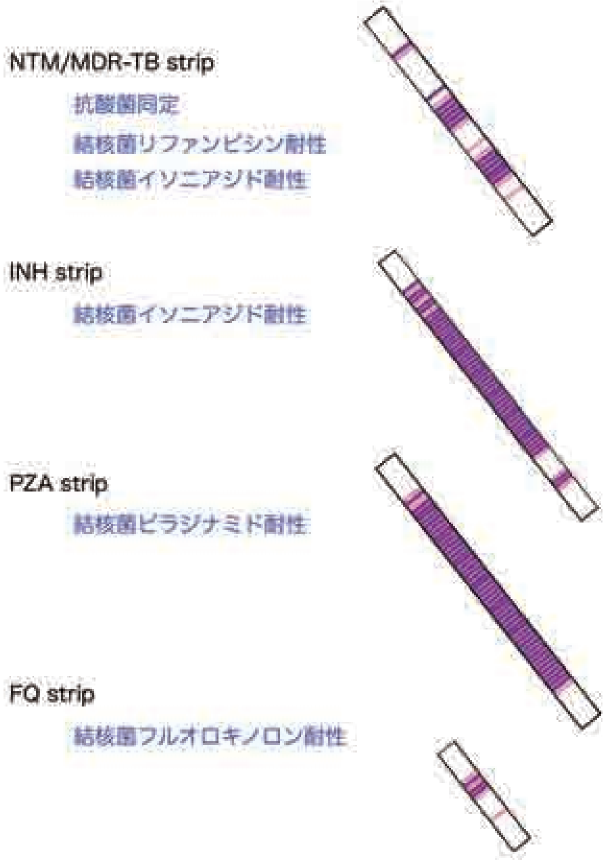
現時点での状況として、結核菌薬剤耐性責任遺伝子変異の研究は、RFPが最も進んでいる。この為に結核菌薬剤耐性責任遺伝子の迅速変異検出が重要になってくる。結核菌遺伝子rpo β領域上の既知の変異にて約95％のRFP耐性を予想出来る。INHが感受性でRFPのみが耐性であるRFP単独耐性結核菌の頻度は低く、大体のRFP耐性結核菌は超多剤耐性結核を含む多剤耐性結核菌なので、RFP耐性責任遺伝子変異を検出する事によって多剤耐性結核のスクリーニングにも使用する事が出来る。現在種々のRFP耐性遺伝子変異検出試薬が市販されている。

では他の薬剤に対する遺伝子迅速検査法はどうであろうか？　RFP以外の薬剤、INH、PZA、fluoroquinoloneに対しては、INH耐性に関与する遺伝子には複数の報告があり、なかでも*katG*遺伝子や*inhA*遺伝子のプロモーター領域の変異が高頻度でみられる。ピラジナミド（pyrazinamide; PZA）耐性結核菌では*pncA*遺伝子に、フルオロキノロン（Fluoroquinolone；FQ）耐性結核菌では*gyrA*遺伝子に変異があることが知られている。RFP耐性菌の約95％が*rpoB*遺伝子に、PZA耐性菌の72-95％が*pncA*遺伝子に、FQ耐性菌の75-94％が*gyrA*遺伝子に変異を持っていることが知られており、結核菌耐性遺伝子検出試薬であるラインプローブアッセイ；LiPAを用いることで同様の感度で臨床検体から迅速に薬剤感受性を判定できると考えられる。このため我々は、ニプロ社が開発した以下の4種のストリップを用いてLiPAを行った[5)]（図1；薬剤耐性遺伝子同定キットの喀痰検査成績LIPA)。

つまりNTM/MDR-TBストリップでは*M. tuberculosis*、*M. avium*、*M. intracellulare*及び*M. kansasii*の菌種同定、結核菌群*rpoB*遺伝子の検出および結核菌群*inhA*、*katG*遺伝子の検出を行い、INHストリップでは結核菌群*inhA*、*fabG1*、*furA*および*katG*遺伝子の検出を行い、PZAストリップでは結核菌群*pncA*遺伝子の検出を行い、FQストリップでは結核菌群*gyrA*遺伝子の検出を行った。なお、FQの代表としてレボフロキサシン（Levofloxacin；LVFX）に対する感受性を検討した。

本邦で検出される非結核性抗酸菌では*M. avium*、*M. intracellulare*および*M. kansasii*の3菌種が主要なものであり、非結核性抗酸菌の約90％を占める。結核菌を含めたこれらの4菌種についてPCRおよび培養何れかの方法で陽性となった検体は82.0％（114/139）(data not shown)

薬剤耐性遺伝子同定キットの喀痰検査成績（LIPA）



喀痰検体 ： 多施設評価

Drug susceptibility test result	Result of the LiPA: No. of resistant	Result of the LiPA: No. of susceptible
RIF	NTM/MDR-TB strip	
Resistant	3	0
Susceptible	0	52
INH	INH strip	
Resistant	3	1
Susceptible	3	39
PZA	PZA strip	
Resistant	4	0
Susceptible	0	52
FQ	FQ strip	
Resistant	7	0
Susceptible	0	48

松本智成、尾形英雄、豊田恵美子、鈴木克洋、斎藤武文、藤田 明、末竹寿紀、近松絹代、水野和重、御手洗聡 「結核」 Vol. 88, No. 3: 291-296, 2013 改変

図１

に対し、LiPA での陽性は78.4％（109/139）であり、臨床検体から直接検出する上で十分な検出感度であった（Table 1；薬剤耐性遺伝子同定キットの喀痰検査成績（LIPA））。

今後、我が国に導入予定の検査機器として XpertTB がある。これも喀痰から結核菌検出のみならず、リファンピシン耐性遺伝子検出を行い多剤耐性結核をスクリーニングすることが出来る。

結核菌の分子疫学解析

結核菌分子疫学解析は、比較する結核菌同士のある特定の配列部位に着目し、それに基づき結核菌が同じ菌株か否かを判断する方法である。シークエンサーにて全遺伝子配列全体の塩基配列を比較し同じか否かを判断するのが将来的な理想の姿であるが、現段階では不可能である。ここで重要な事は、分子疫学解析にて違う菌株と判断されれば解析手法の間違いがなければ違う菌株であるといいきれるが、同じ場合、確率論的に同じと判断しているのであって、別の手法で判断したら異なる場合もありえる。

1990年代後半から実用可能になった結核菌の分子疫学解析は、21世紀を迎えて大きな変革の時期を迎えた。それまでの結核菌分子疫学解析は Insertion Sequence 6110（IS6100）をプローブとした結核菌ゲノムの blotting である IS6110 Restriction Fragment Length Polymorphorism

(IS6110 RFLP) 解析が中心であったが、IS6110 RFLP は、大量の結核菌ゲノム遺伝子を必要とする為に解析時間が結核菌の増殖の遅さに依存し、解析に熟練を要する。さらに施設内、施設間における再現性の低さという問題を抱えていた。そのような状況下の結核菌の分子疫学分野においてPolymerase Chain Reaction (PCR) を利用したVariable Numbers of Tandems Repeats (VNTR) が導入されると [6, 7, 8]、VNTR は、その迅速性ならびに再現性の高さにより世界中においてIS6110 RFLP に取って代わられるようになった。さらに、VNTR はおのおのの国において全国結核菌タイピングデータベース構築が進行している。また、結核菌の系統解析には同じPCR を利用したspoligotyping も用いられる。(図2：結核菌の分子疫学解析) Spoligotyping と同様に、VNTR は結核菌の系統解析にも用いられる場合がある。トルコで多くみられるLAM7-TUR 株と日本人にしか認められていない結核菌株T3-Osaka 株はspoligotyping では全く異なる系統の菌株であるが、多型反復領域の12領域を利用した12MIRU-VNTR では全く同じである事からSNPs 解析にてこれらの菌株を比較検討した。するとSNPs 解析ではこれらの菌株が同系統にあることが明らかとなり12MIRU-VNTR にて結核菌の系統進化を辿ることができる可能性を明らかにした [9]。

さらにVNTR を中心としたPCR を利用した結核菌分子疫学解析を利用することにより今まで疫学解析が中心であった結核菌分子疫学解析も臨床応用することが可能になってきた。結核治療を行った患者が、再排菌したときに、内因性の再燃 (内因性再燃) か、他の菌に再び感染し (外来性感染) 発病したのかの判断が可能になった。内因性再燃ならば結核治療の治療期間、投与量を含めてなにか問題があった可能性があり、外来性 再感染であれば治療後に新たに結核に暴露

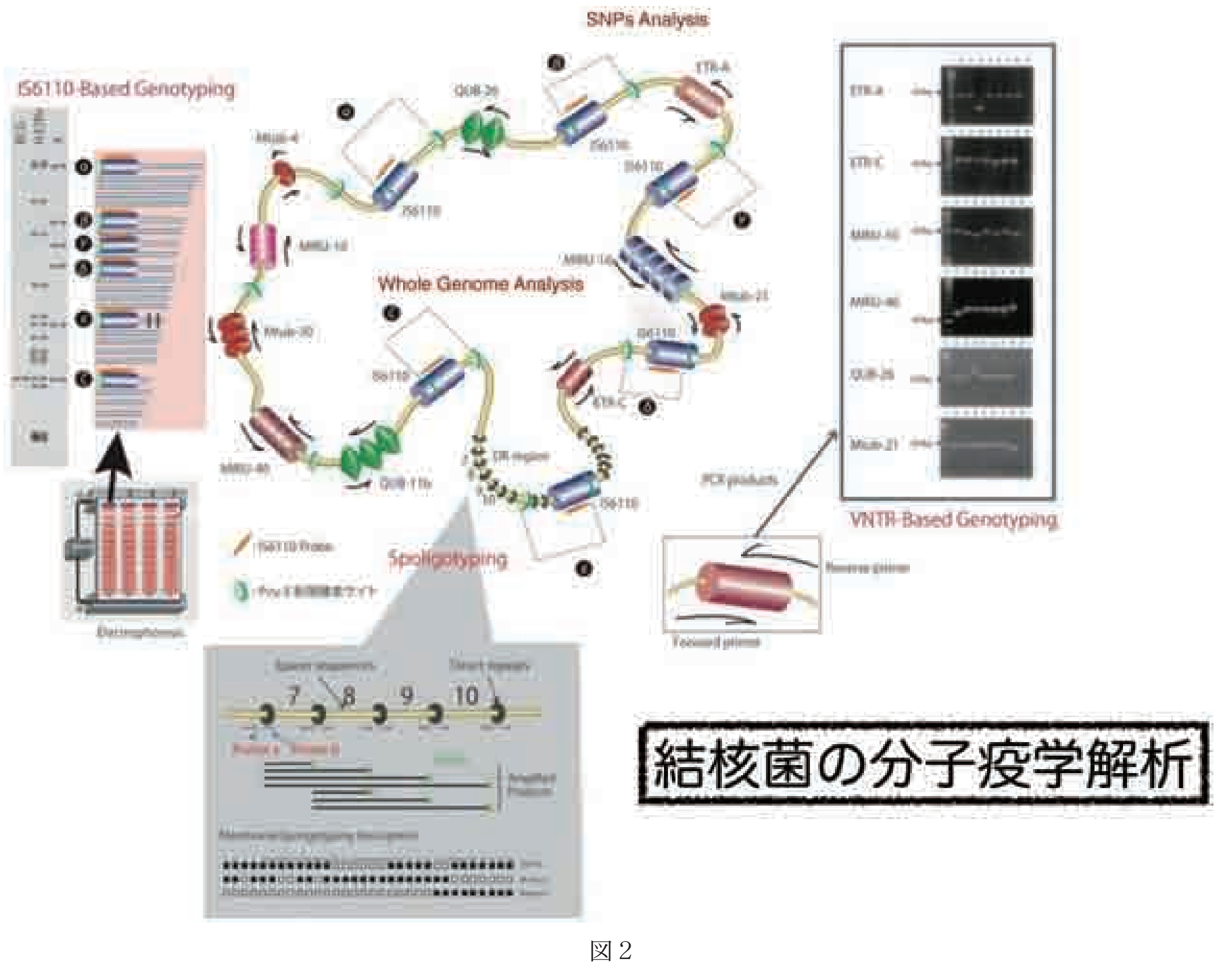


図2

される環境にいたということが考えられ公衆衛生学的な対応が必要となってくる[10)]。

また、結核菌排菌患者と接触歴のある患者が、発病し排菌した時に喀痰から直接VNTR解析を行うことにより接触歴と関連性があるか否かが数日で判断でき、特にMulti-Drug Resistant Tuberculosis（MDR-TB）排菌患者やeXtensively Drug Resistant Tuberculosis（XDR-TB）排菌患者と接触歴のある場合に、もともと感染していた結核菌が発病したのか、問題となる接触歴のあるMDR-/XDR-TBが感染発病したかいなかの判断に有用である。MDR-/XDR-TB感染による発病が判明し迅速に対応することにより、さらなる感染拡大を防ぐことができる。また、順調に治療が行われ一旦、結核菌排菌陰性化した患者が再排菌した場合、治療が失敗したのか、MDR-/XDR-TBの外来性再感染発病が起こったのか、はたまた検査室のコンタミネーションにより擬陽性であったのか、これらを迅速に判断できることで、不必要な入院延長を回避し、医療費削減にも役立てることが出来る[11)]。

おわりに

有効な治療法が少なく、かつ莫大な治療経費を必要とするMDR-/XDR-TB対策には、DOTSのみならず、結核菌分子疫学解析を駆使し感染拡大を防止する事が重要な手段の一つになる。

文献

1．Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Emergence of Mycobacterium tuberculosis with extensive resistance to second-line drugs-worldwide, 2000- 2004. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 55(11): 301-305, 2006.

2．World Health Organization (WHO): Extensively drug- resistant tuberculosi (s XDR-TB): recommendations for prevention and control. Wkly Epidemiol Rec 8 (145): 430-432, 2006.

3．WHO, Dangerous TB spreading at alarming rate in Europe: WHO | Reuters http://www.reuters.com/article/2011/09/13/us-tuberculosis-europe-idUSTRE78C7VD20110913

4．Ano H, Matsumoto T, and et al. Relationship between the isoniazid-resistant mutation katGS315T and the prevalence of MDR-/XDR-TB in Osaka , Japan Int J Tuberc Lung Dis 2008 12(11): 1300-5

5．松本智成、尾形英雄、豊田恵美子、鈴木克洋、斎藤武文、藤田 明、末竹寿紀、近松絹代、水野和重、御手洗聡　ラインプローブ法による抗酸菌同定および結核菌薬剤感受性判定の臨床評価雑誌「結核」Vol.88, No.３：291-296, 2013

6．Frothingham R, Meeker-O'Connell WA: Genetic diversity in the Mycobacterium tuberculosis complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. Microbiology 144 (Pt 5): 1189-1196, 1998.

7．Supply P, et al: Variable human minisatellite-like regions in the Mycobacterium tuberculosis genome. Mol Microbiol 36: 762-771, 2000.

8．Supply P, et al: Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable- number tandem repeat typing of Mycobacterium tuterculosis. J Clin Microbiol 44: 4498-451026, 2006.

9．Edgar Abadia, et al, Resolving lineage assignation on Mycobacterium tuberculosis clinical isolates classified by spoligotyping with a new high-throughput 3R SNPs based method, Infection, Genetics and Evolution, 2010; 10(7): 1066-1074

10. 松本智成　第82回総会教育講演　II 結核菌の分子疫学 雑誌「結核」Vol.82, No. 12：933-940, 2007

11　．松本智成、トピックス　院内感染：診断と治療の進歩病原体別にみた院内感染と対策　５．結核菌、日本内科学会雑誌　第97巻　第11号　63-71.

家畜と伴侶動物における薬剤耐性菌

酪農学園大学 獣医学群食品衛生学

田　村　　　豊

■内容

Ⅰ．わが国の食用動物由来耐性菌に対する対応 …… 135
　1．家畜衛生分野における薬剤耐性モニタンリング体制（JVARM）の設立 …… 135
　2．食品媒介性健康影響評価の実施 …… 136
　3．リスク管理措置の設定 …… 136
　4．慎重使用のガイドラインの制定 …… 136
Ⅱ．わが国における抗菌薬の使用量と動物由来耐性菌の現状 …… 137
　1．抗菌性物質の使用量 …… 137
　2．食用動物における耐性菌の出現状況 …… 137
　　⑴　健康食用動物由来カンピロバクターの薬剤耐性状況 …… 137
　　⑵　健康家畜由来大腸菌の薬剤耐性状況 …… 138
　　⑶　食用動物における抗菌薬使用による耐性菌の出現と伝播 …… 140
　3．伴侶動物における耐性菌の出現状況 …… 140
　　⑴　イヌおよびヒト由来 CEP 耐性大腸菌の耐性性状 …… 140
　　⑵　イヌ由来 FQ 耐性大腸菌の FQ 耐性と CEP 耐性との関連 …… 141
おわりに …… 143
参考文献 …… 144

Florey & Chain によりペニシリンが臨床応用されて以来、抗菌薬はヒトの感染症の治療薬としてなくてはならないものとなっている。一方、抗菌薬は医学のみならず獣医学分野でも盛んに利用されており、特に安価で安全な畜産物の安定的な生産に大きく貢献している。しかし、抗菌薬が獣医学分野で汎用されることに伴い、薬剤耐性菌が選択・増加したことも事実である。近年、食用動物に使用される抗菌薬により選択された耐性菌が、食物連鎖を介してヒトの健康に影響することが懸念され、その封じ込め対策を検討する多くの国際会議が開催されている[1]。当初は、食用動物への抗菌薬の使用により出現した耐性菌がヒトの健康に影響する可能性は否定できないが、科学的な根拠は明らかでないとされてきた。しかし、最近開催された WHO（世界保健機関）、FAO（国連食糧農業機関）、OIE（国際獣疫事務局）共催の国際会議では、菌種は限定され程度は不明ながら、食用動物に使用される抗菌薬によって耐性菌が選択・増加し、それがヒトに伝播してヒトの健康に影響する十分な証拠が蓄積されていると結論付けられた[2]。したがって、国際機関ではすでに食用動物由来耐性菌のヒトに対するリスクは明らかであり、そのリスク低減のためのリスク管理の時代に突入している。このような国際的な動きを受け、わが国でも家

畜衛生分野における薬剤耐性モニタリング制度の発足、動物用抗菌薬や抗菌性飼料添加物のヒトの健康への影響に対するリスク評価の実施、そのリスクを低減化するリスク管理対策の実施などの様々な対策が実施されている。

一方、伴侶動物分野では、ペットブームにおいても人体用抗菌薬の使用が普及しており、伴侶動物専用の抗菌薬の開発促進には至らなかった。したがって、伴侶動物分野で使用される抗菌薬の大部分が人体用である。伴侶動物における耐性菌問題は、これまでの国際会議で全く議論の俎上にすら上がっていなかった。ところが、前述の2003年の国際会議[2)]で初めて伴侶動物由来耐性菌のヒトの健康に対する影響が指摘された。多くの国ではわが国と同様に伴侶動物で人体用抗菌薬が汎用されており、伴侶動物由来耐性菌について共通の問題意識を持っている。伴侶動物の飼育形態や抗菌薬の使用実態を考えると、今後、伴侶動物の耐性菌問題について活発な議論が国際的に展開されることが予測される。

そこで今回は、食用動物由来耐性菌に対するわが国の対応状況を紹介する。合わせて食用動物由来耐性菌の検出状況を紹介したい。また、伴侶動物におけるフルオロキノロン（FQ）薬と第三世代セファロスポリン（CEP）薬に対する耐性菌の出現状況を紹介したい。

Ⅰ．わが国の食用動物由来耐性菌に対する対応

食用動物由来耐性菌のヒトの健康に対する影響が次第に明らかになるにつけ、国際機関で耐性菌の封じ込め対策が盛んに議論されるようになった。しかし、食用動物由来耐性菌のヒトの健康への影響が必ずしも明確に解明したわけでなく、WHO（1998）は耐性菌対策として以下の４点を勧告した[3)]。つまり、①研究の推進、②薬剤耐性モニタンリングの実施、③リスク評価の実施、④抗菌薬の慎重使用の励行である。そこで農林水産省は、WHO の勧告に従って全ての項目について対応している。以下に簡単に農林水産省の各項目に対する対応状況について説明したい。

１．家畜衛生分野における薬剤耐性モニタンリング体制（JVARM）の設立

農林水産省は2000年から動物医薬品検査所を中心に全国の家畜保健衛生所とネットワークを構築し、家畜衛生分野における全国的な薬剤耐性モニタリングを開始した。本モニタリング体制は、開始から15年を経過し、国内外に JVARM（Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program）として広く知られている（http://www.maff.go.jp/nval/tyosa_kenkyu/taiseiki/index.html）。JVARM では、大きく３つのモニタリングを実施している。まず、食用動物における抗菌薬の使用量の調査として、毎年、実際の使用量ではないものの有効成分の純末換算量による製造量または輸入量を明らかにし、動物種ごとの推定販売割合について調査し公表している。また、野外流行株の調査として、全国の家畜保健衛生所で伝染病を診断するための病性鑑定材料から分離した病原細菌を対象とした耐性菌調査を実施している。さらに、健康動物由来食品媒介性病原細菌（サルモネラとカンピロバクター）及び指標細菌（大腸菌と腸球菌）に関する耐性菌調査を実施している。最近、従来の農場でのモニタリングに加え、と畜場および食鳥処理場における調査を実施し、さらに利便性と精度の高いモニタリング方法を模索している。

２．食品媒介性健康影響評価の実施

現在、内閣府の食品安全委員会において、農林水産省から諮問されている飼料添加物として指定されている抗菌薬およびそれと同系統の動物用医薬品の使用により選択される耐性菌と、新規の抗菌薬である動物用医薬品の承認又は再審査に際しての食品媒介性健康影響評価が実施されている。これは、いわゆるリスク評価といわれるもので、食品を介してヒトに対し危害因子となる食用動物由来耐性菌をハザードとして特定し、それについて農場での発生評価、ヒトへの曝露評価、それに影響評価を行って、ヒトの健康に対するリスクを推定している。これまでモネンシンナトリウムなどの抗菌性飼料添加物26成分と抗菌性の動物用医薬品５成分の評価が終了している。動物用医薬品では、医療上最も重要な医薬品としてランク付けされている牛・豚・鶏用の FQ 薬の評価が終了し、「リスクの程度は中程度」とされた（http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20071024051）。現在、FQ 薬と同じく最も重要な医薬品とされる牛・豚用の第三世代 CEP 薬であるセフチオフルのリスク評価が行われている。

３．リスク管理措置の設定

食品安全委員会によるリスク評価が終了すれば、農林水産省によりリスクの低減化対策が実施されることになる。食用動物に使用される FQ 薬のリスク評価が終了したことを受け、農林水産省は「動物用抗菌性物質製剤のリスク管理措置策定指針」を発出した（http://www.maff.go.jp/nval/risk/title.html）。その目的は、畜水産動物に対する有効性と安全性の確保と、科学的知見に基づくリスク管理措置を策定することとされている。特に、ヒトの健康に対する悪影響を低減化することを最優先とすることである。このリスク管理策定指針に基づいて、牛・豚用 FQ 薬のリスク管理措置について公表されている。具体的には、第二次選択薬として使用することを徹底すること、投与後一定期間内（３日程度）に効果判定を実施し効果が無い時は抗菌薬を変更すること、国および製造販売業者が実施する薬剤耐性モニタリングを充実することとされている。

４．慎重使用のガイドラインの制定

薬剤耐性菌の出現要因として最も重要なことは、抗菌薬の過剰使用と誤用にあるとされている。したがって、抗菌薬の使用に関しては、OIE や CODEX などの国際機関や多くの国で指針が作成されている。OIE では、「獣医療における動物用抗菌薬の責任ある慎重使用」[4)] を定めている。また CODEX では、責任ある慎重使用を推進するため、ガイダンス「抗菌薬耐性の最小化及び抑制のための実施規範」[5)] を定めている。ここでいう慎重使用とは、抗菌薬を使用すべきかどうかを十分に検討した上で、抗菌薬の適正使用により最大限の治療効果を上げ、耐性菌の選択を最小限に抑えるように使用することである。つまり、従来の適正使用より、さらに注意して抗菌薬を使うことを意味する。農林水産省は、2013年に畜産分野において抗菌薬を使用する際の獣医師及び生産者を中心とした責任ある慎重使用ガイドラインに相当する「畜産物生産における動物用抗菌性物質製剤の慎重使用に関する基本的な考え方」を発出した（http://www.maff.go.jp/ｊ/shouan/tikusui/yakuzi/pdf/lastmain.pdf）。これによると、適切な飼養衛生管理による感染症予防、適切な病性の把握及び診断、抗菌薬の選択及び使用、関係者間の情報の共有を基本とすることが示されている。

Ⅱ．わが国における抗菌薬の使用量と動物由来耐性菌の現状

JVARMが開始されることによって、食用動物における耐性菌の検出状況が次第に明らかになってきた。そこで抗菌薬の使用量とともに、健康動物由来カンピロバクターと大腸菌について、特に医療上最も重要とされるFQ薬と第三世代CEP薬の耐性状況について紹介したい。また、最近、我々が報告したFQ薬を対象動物に投与した時の耐性菌出現状況に関する研究成績を紹介する。

１．抗菌性物質の使用量（図１）

純末換算量として人体用抗菌薬は509トン使用されているに対し、動物では医薬品として994トン、成長促進を目的とした抗菌性飼料添加物が168トン、農薬として371トンが使用されている。つまり、人体用の２倍量強の抗菌薬が動物に使用されていることになる。動物種別に使用量を見ると、医薬品としての抗菌薬の約500トンが豚に使用され、ついで養殖魚、ブロイラーが続いている（図２）。したがって、動物に使用される抗菌薬の約50％が豚に使用されていることになり、後述の耐性菌の出現状況をみると、その必要性について再検討する必要がある。

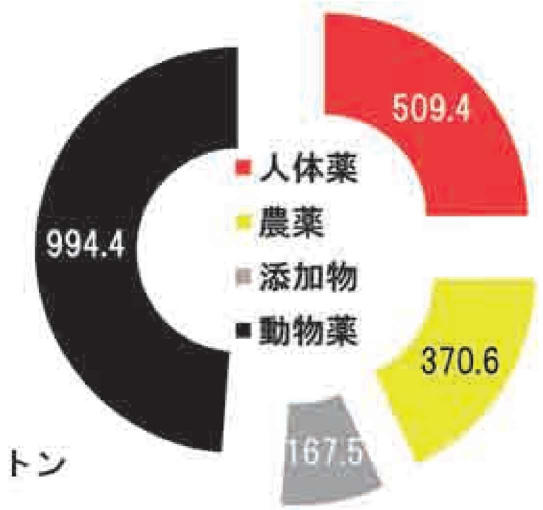


図１　抗菌薬の販売数量（2001と2002年の平均値）

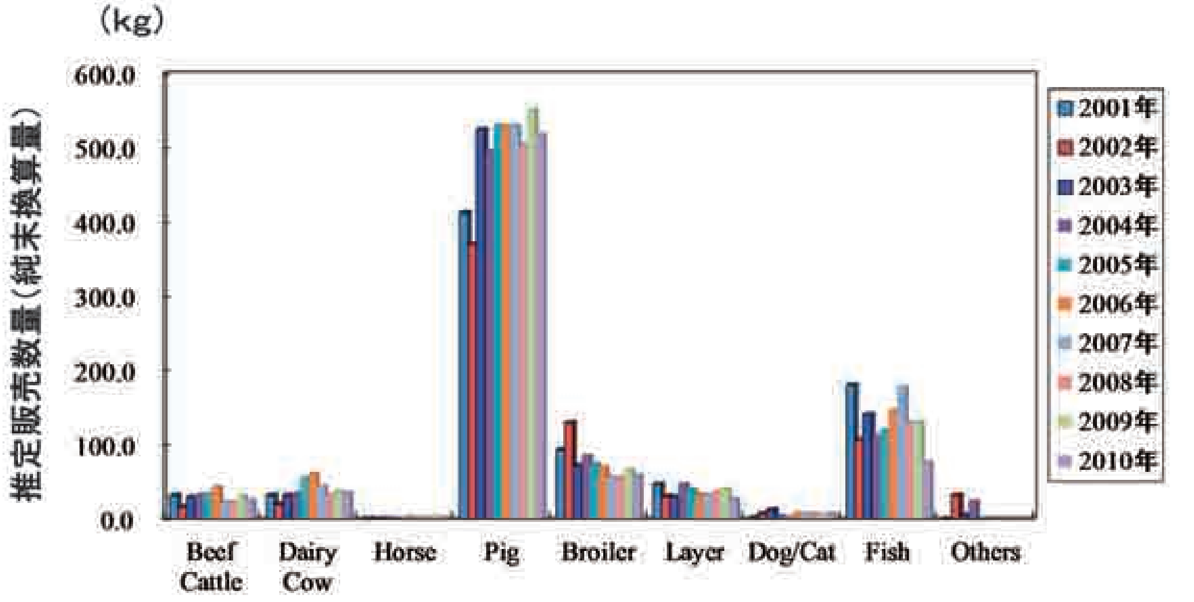


図２　動物種別抗菌薬の推定販売数量
「各種抗生物質・合成抗菌剤・駆虫剤・抗原虫剤の販売高と販売量」（農林水産省）を改変

２．食用動物における耐性菌の出現状況

⑴　健康食用動物由来カンピロバクターの薬剤耐性状況

カンピロバクターは、細菌性食中毒の起因菌として最も重要なものである。その内、起因菌の

90％以上は *Campylobacter jejuni* であり、残りが *C.coli* であるとされている。両菌種はカンピロバクター食中毒起因菌として同等に取り扱われているが、図３で示されるように、健康動物から分離された両菌種の薬剤感受性は全く異なっており同列に論議することはできない。*C.jejuni* の40％の株はオキシテトラサイクリン（OTC）に耐性を示し、約20％の株が動物専用の FQ 薬であるエンロフロキサシン（ERFX）に耐性を示している。*C.jejuni* による食中毒は、ほとんどが治療を必要としないものであるが、重症例ではマクロライド系抗生物質が第一次選択薬となる。図３でも明らかなように、健康動物由来 *C.jejuni* では、1999年以来全くマクロライド系のエリスロマイシン（EM）に対する耐性株は認められていない。しかし、第二次選択薬で使用される FQ 薬に対して耐性株が認められ年ごとに上昇傾向が伺えることが懸念される。なお、わが国の *C.jejuni* の EM 及び ERFX に対する耐性状況は、他国と比べ突出したものでなくアメリカとほぼ同じ傾向にあるとされている。

一方、*C.coli* の多くの株は EM を含む調査した全ての抗菌薬に対して耐性を示し、特に OTC に対して高い耐性率を示している。*C.coli* は主に豚から分離されるカンピロバクターであり、先に述べたように豚に対して抗菌薬が汎用されていることとの関連が示唆される。また、*C.jejuni* と同様に ERFX に対する耐性率が年々上昇する傾向が伺える。

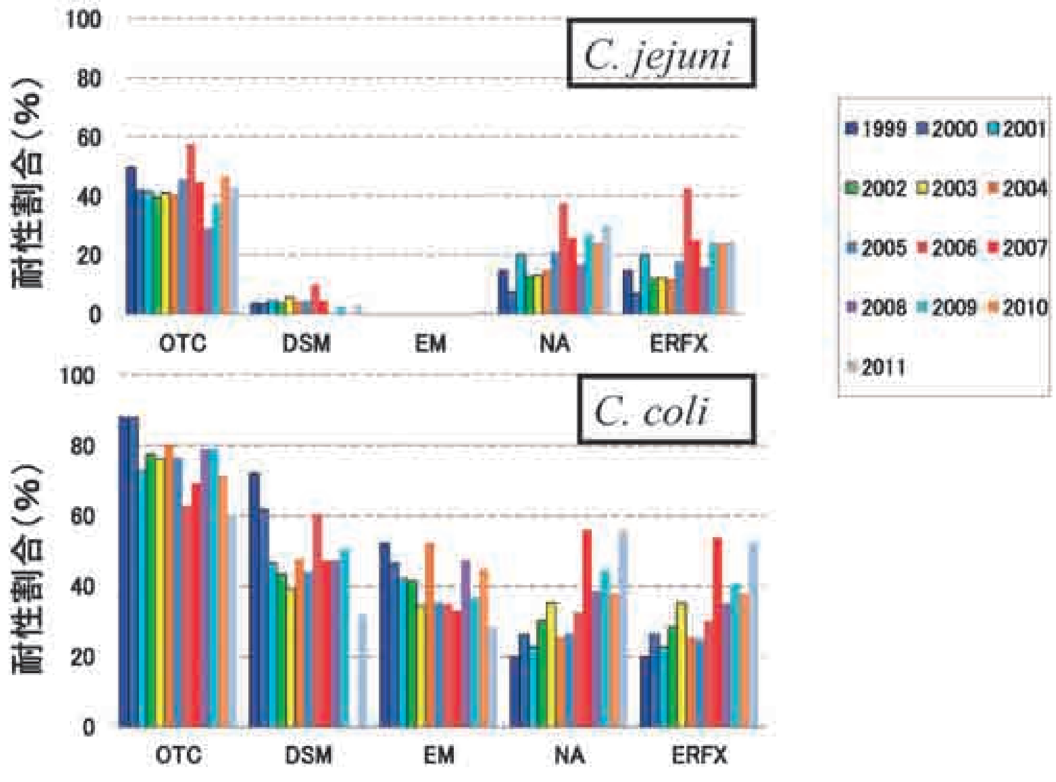


図３　健康食用動物由来カンピロバクターの薬剤耐性状況
OTC; オキシテトラサイクリン、DSM; ジヒドロストレプトマイシン、EM; エリスロマイシン、NA; ナリジクス酸、ERFX; エンロフロキサシン

⑵　健康家畜由来大腸菌の薬剤耐性状況

腸管に常在する大腸菌は、常に抗菌薬に曝露されており、薬剤耐性の指標となるとされている。そこで牛、豚、産卵鳥（レイヤー）、肉用鶏（ブロイラー）の糞便から分離した大腸菌の FQ 薬と第三世代 CEP 薬に対する薬剤感受性を調べた。図４に示されているようにブロイラー

由来株は、ナリジクス酸やFQ薬に対して他の動物由来株より高い耐性率を示している。

一方、ブロイラー由来株のセファゾリンやセフォタキシムに対する耐性率はさらに顕著で、2002年ころから急激に増加し2011年には約20%に達している（図5）[6]。この傾向は牛、レイヤーや豚由来大腸菌に比べても極めて特異的な傾向にあり、他国での同様の現象を考え合わせれば特別な理由の存在が窺えた。鶏に用いるCEP薬は承認されておらず、一般的に高価であることから経済性からも使用は考えにくい。そこで耐性菌増加の原因を調査したところ、諸外国と同様に利便性から汎用されているワクチンの卵内自動接種システムにおいて、消毒薬代わりにワクチンに動物用第三世代CEP薬のセフチオフルを混入する実態が明らかにされた。卵内自動接種

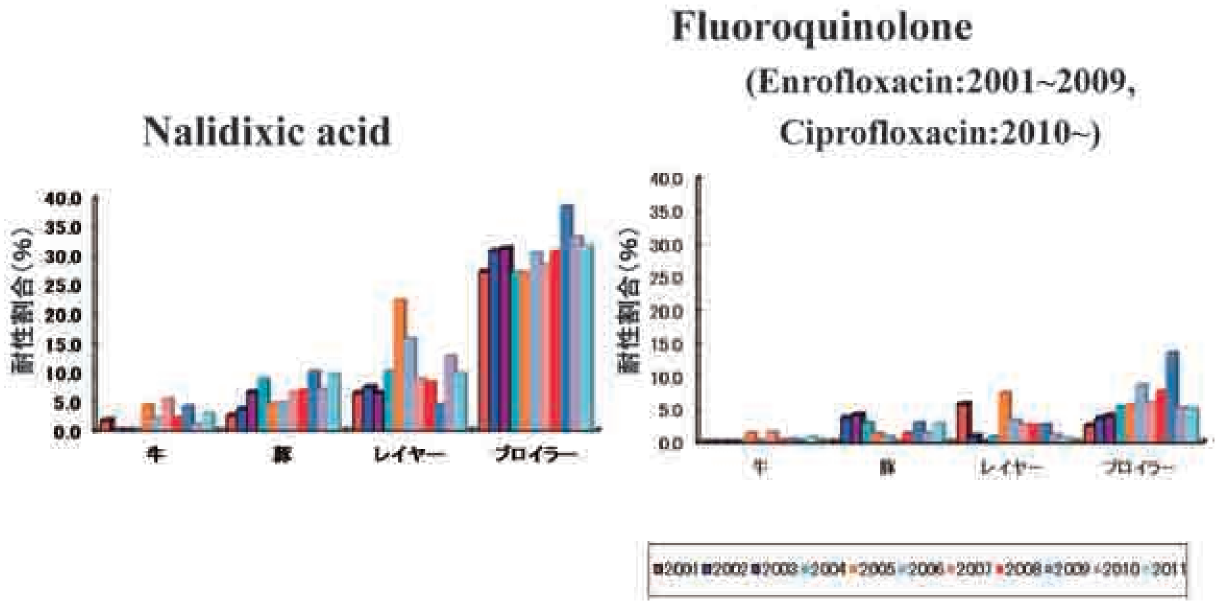


図4　由来動物種別大腸菌に対するキノロン薬の耐性率

フルオロキノロン薬としてエンロフロキサシンとシプロフロキサシンが使用されているが、両薬の同等性は確認されている。

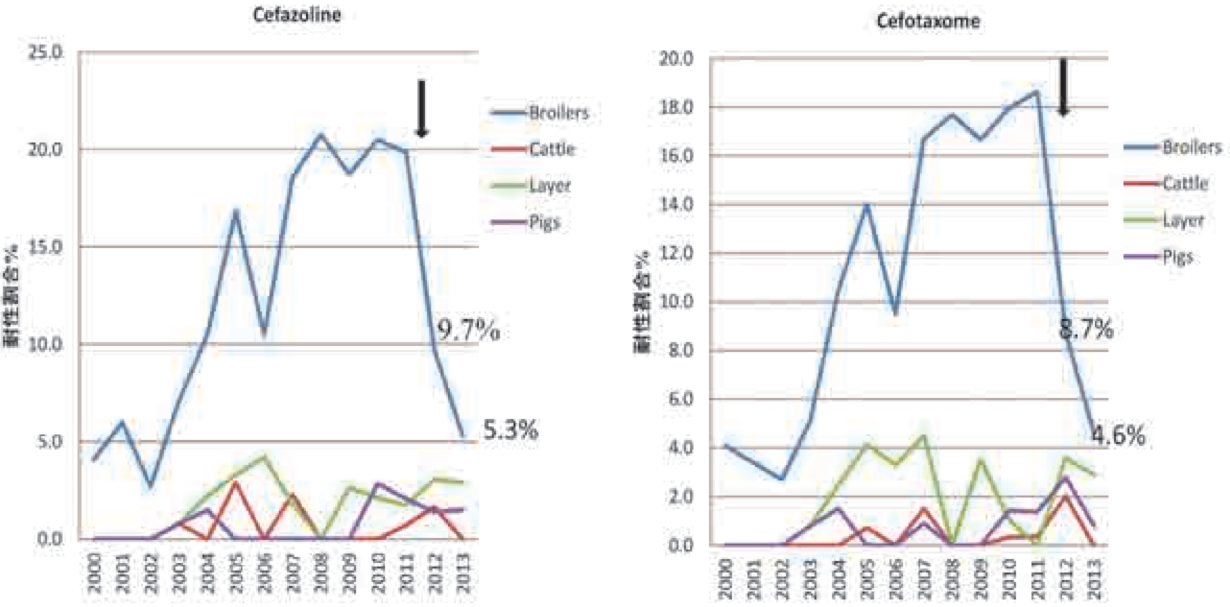


図5　食用動物由来大腸菌のセファロスポリン耐性の推移

⬇；2012年3月に農林水産省の指導により養鶏団体が自主規制

システムとは、発育鶏卵中の胎児はすでに免疫応答するとの報告から開発されたもので、発育鶏卵中の胎児に連続的にワクチンを接種するものである。そこで2012年３月に農林水産省の指導により養鶏団体が自主的に使用を規制した。その結果、2013年にはベースラインである約５％まで耐性率が低下している。この事例は、抗菌薬（CEP 薬）の過剰使用・誤用が如何に耐性菌の増加に影響しているかを明らかにするとともに、責任ある慎重使用の重要性を示した。なお、この傾向はカナダにおいても同様であることが報告されている。

⑶　食用動物における抗菌薬使用による耐性菌の出現と伝播

抗菌薬を承認された用法用量で使用した場合、耐性菌の出現状況はどのようなものであろうか。また、耐性菌はどのように動物間を伝播するのであろうか。この問題を明らかにするため、我々は医療上重要な FQ 薬を対象動物に用法用量に準拠して投与する動物実験を実施したので紹介したい。

18日齢の豚に ERFX　5.0㎎/kg を筋肉内、あるいはノルフロキサシン5.0㎎/kg の経口投与を５日間行ったところ、投与３～４日後に FQ 耐性カンピロバクターが分離され、少なくとも投与26日後まで持続した（図６Ｂ）[7]。一方、カンピロバクターは FQ 薬の投与により一過性に減少したが、投与終了後には投与前の菌数に復帰した（図６Ａ）。つまり、復帰したカンピロバクターの大部分が FQ 耐性菌であることを示している。その後、群飼育が FQ 耐性カンピロバクターの伝播に及ぼす影響を明らかにするため、無処置対照豚５頭に FQ 耐性カンピロバクター保有豚１頭を同居させたところ、同居３日後に全ての豚から FQ 耐性菌が分離された（図７）[7]。加えて豚舎環境からも FQ 耐性カンピロバクターが分離された。このことは、豚に FQ 薬を用法用量に準じて投与しても、速やかに FQ 耐性カンピロバクターを選択し、群飼育により豚舎環境を介して群内に急速に拡散することが明らかになった。

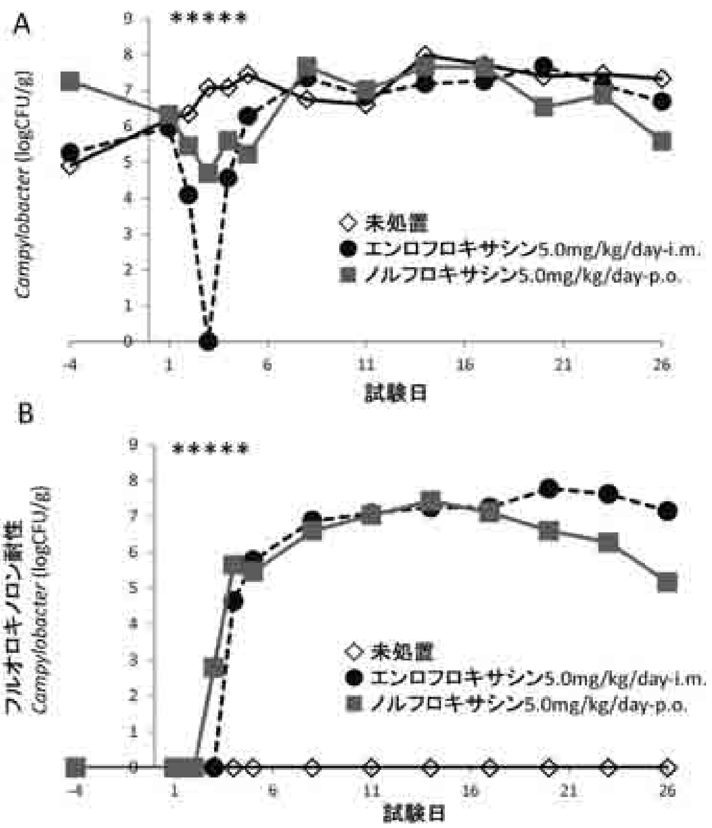


図６　フルオロキノロン投与豚における耐性カンピロバクターの推移
一群5頭の豚を使用。　＊：フルオロキノロン薬の投与

３．伴侶動物における耐性菌の出現状況

⑴　イヌおよびヒト由来 CEP 耐性大腸菌の耐性性状

我々はイヌ由来およびヒト由来耐性大腸菌について各種性状を比較し、イヌとヒト間での伝播の可能性を調べた[8]。供試株は動物病院に来院したイヌの直腸スワブから分離した大腸菌28株

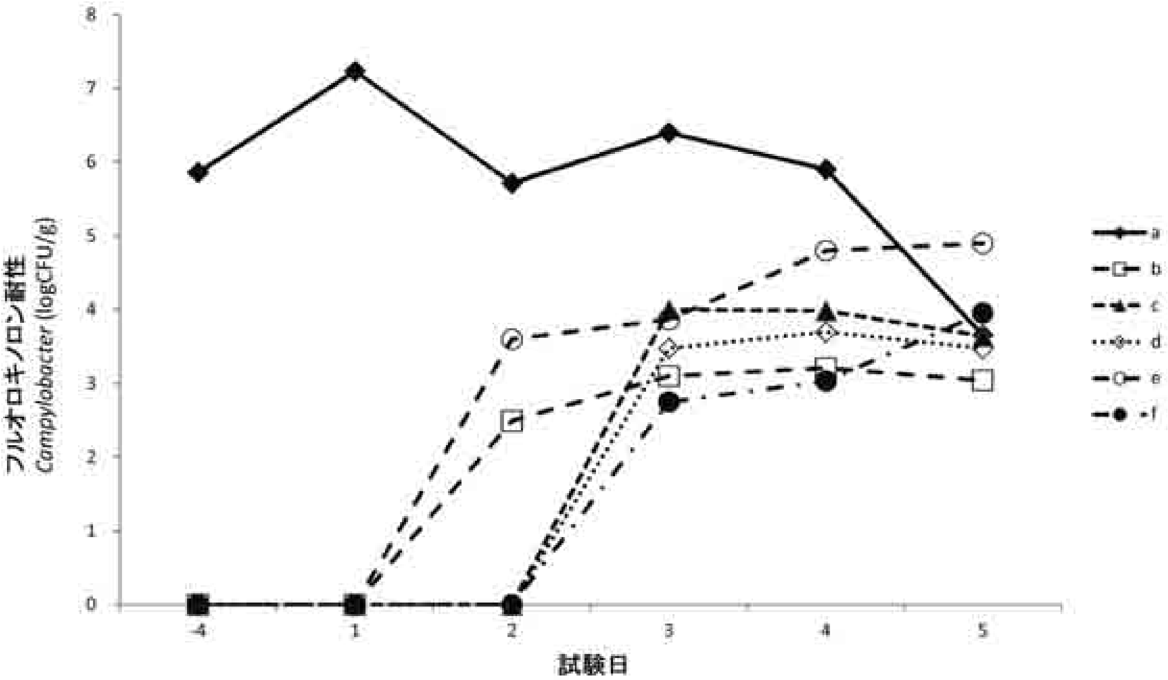


図7　フルオロキノロン耐性カンピロバクター保有豚による耐性菌の伝播
フルオロキノロン耐性菌保有豚（a）と無処置対照豚（b,c,d,e,f）を同居

と、患者由来の尿、喀痰、便などから分離された大腸菌42株を用いた。いずれも第三世代CEP剤であるセフポドキシム（CPDX）を含むミュラーヒントン寒天培地（4㎎/L）で発育を認めた大腸菌である。まず薬剤感受性を調べたところ、CPDXを始め供試したすべてのβ-ラクタム系抗菌剤に100％耐性を示すに対し、FQであるERFXに対しても76.9％に耐性を示した。分離株のO群血清型別を実施したところ、イヌ由来株は多くは型別不能でありO1が28.6％であった。一方、ヒト由来株も型別不能株が多いもののO25が35.7％を示し、両由来株のO抗原型が異なる傾向にあった。次に分離株のβ-ラクタマーゼ遺伝子を調べたところ、イヌ由来株は$bla_{CMY\text{-}2}$が多いのに対し、ヒト由来株は$bla_{TCX\text{-}M}$型が多い傾向にあった（表1）。また、*ampC*プロモーター領域の点変異を調べたところ、AmpCの過剰発現を強力にもたらす変異（−42部分、−32部分）を保有した株はイヌ由来株で4株認めただけだった。最後に分離株の遺伝子型を調べるためにパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）による系統樹解析を行った。その結果、イヌ由来株が優位に多いクラスター（p <0.01）と、ヒト由来株のみ認められるクラスターに大きく二つに分類された。イヌ由来株が多いクラスターに分類されたヒト由来の1株はイヌ由来株と96％の相同性を示した。以上の成績は、イヌ由来CEP耐性大腸菌は、大きくみればヒト由来大腸菌と各種性状や遺伝学的に異なっているものの、PFGEで区別できない株も存在することを示した。

⑵　イヌ由来FQ耐性大腸菌のFQ耐性とCEP耐性との関連[9)]

2005年に我々は酪農学園大学附属動物病院（RGU）に来院した93頭と江別市内の8動物病院（市中病院）に来院した80頭のイヌに対し治療行為を行う前の糞便から薬剤無添加のDHL寒天培地により140株の大腸菌を分離した。分離株の薬剤感受性を見ると、アンピシリン（ABPC）やアモキシシリン（AMPC）に対する耐性率は30％で、次いでジヒドロストレプトマイシン(DSM)、オキシテトラサイクリン（OTC）が続いた。また17.7％の株がERFXに対して耐性を示し、その多くの株（14.3％）がCPDXにも耐性を示した（図8）。ERFX耐性大腸菌の分離率

表１　大腸菌から検出されたβ-ラクタマーゼ遺伝子

	βラクタマーゼ遺伝子					
菌株	$bla_{CTX-M-2}$	$bla_{CTX-M-14}$	$bla_{CTX-M-27}$	bla_{CMY-2}	bla_{CMY}-like	bla_{CMY-8}
犬由来株 (n=28)	0	10.7% (3)	3.6% (1)	35.7%** (10)	7.1% (2)	0
人由来株 (n=42)	14.3%* (6)	33.3%* (14)	38.1%** (16)	7.1% (3)	0	2.4% (1)

(　)内は株数　*: $p < 0.05$
**: $p < 0.01$

は、RGU で20.3％で市中病院の7.6％より有意に高く（p <0.05)、RGU の１頭当たりの使用抗菌剤数や FQ 剤の使用頻度が市中病院より有意に高かった（p <0.01)。全ての FQ 耐性株は、QRDR 内に３～４か所のアミノ酸置換が認められた。

一方、ヒト由来 FQ 耐性大腸菌の分離率は23.4％でイヌからの分離率より高い傾向にあった[10)]。ヒト由来 FQ 耐性株はイヌ由来 FQ 耐性株と同様に QRDR 内に３～４か所のアミノ酸置換が認められた。一部の株の QRDR 内のアミノ酸置換パターンはイヌ由来 FQ 耐性株と同一であったものの、多くの株はイヌ由来のそれと異なったものであった。さらにヒト由来 FQ 耐性株で主要な QRDR 型を示す株は、B2-O25-ST131という遺伝子型の特定のクローンであった[11)]。これらの株は、多くの病原遺伝子を保有し、高頻度に CEP に耐性を示した。

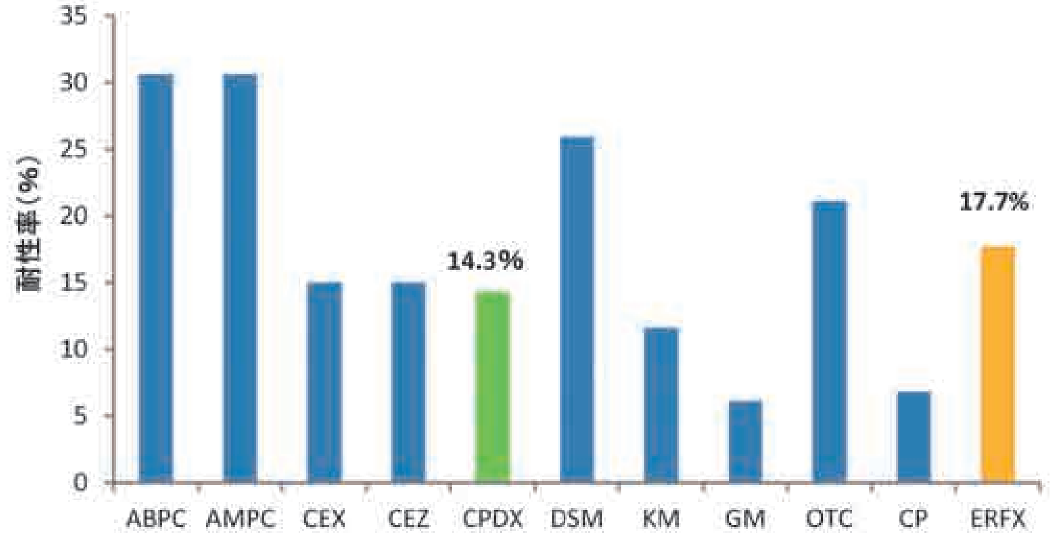


図８　イヌ由来大腸菌の薬剤感受性

ABPC: アンピシリン、AMPC: アモキシシリン、CEZ: セファゾリン，CPDX: セフドキシム、DSM: ジヒドロストレプトマイシン､KM: カナマイシン､GM: ゲンタマイシン､OTC: オキシテトラサイクロン､CP: クロラムフェニコール、ERFX: エンロフロキサシン

おわりに

これまで国際機関では、食用動物由来耐性菌のヒトの健康に対する影響は明らかでないとされており、リスク評価の重要性が指摘されてきた。しかし、今回ご紹介したように限定された成績であるものの耐性菌に係る国際会議で、すでに食用動物由来耐性菌にヒトの健康に対するリスクがあるとされたことは重要な意味を持つ。つまり、国際機関では、この問題に対するリスク評価からリスク管理の時代に移行しつつあることを示している。当然、わが国においても今後のリスク評価結果次第では、リスク管理対策として動物用抗菌薬の使用制限や禁止措置が取られる可能性のあることを示している。実際、今回示したJVARMの成績のように、わが国で飼育される食用動物から医療上重要視されるFQ薬や第三世代CEP薬に対する耐性菌が出現し、増加傾向にあることが懸念されている。

これまで農林水産省は、WHOによる耐性菌対策による勧告に対して真摯に対応し、耐性菌を制御するためのあらゆる方策を講じてきた。今回紹介したように、先進国から遅れたものの、JVARMを設立し畜産現場における耐性菌の出現動向を監視するシステムを確立している。また、食品安全員会では、抗菌性飼料添加物や抗菌性医薬品の食品媒介性リスク評価を順次進めている。特に最近、FQ薬のリスク評価を終了し、リスクの程度は「中程度」とされたことは特筆に値することである。このリスク評価結果を基に農林水産省で実施されるリスク管理方策についても紹介した。幸いに使用制限がかかることなく今後も使用できることは、獣医療にとって抗菌化学療法の“最後の砦”を残せた意義は大きい。現在、牛と豚に最も使用される第三世代CEP薬であるセフチオフルのリスク評価が進行中であり、この評価結果の成り行きも注目される。

今回、FQ薬を用法用量に準拠して投与した食用動物における耐性菌の出現状況を調べた我々の成績を紹介した[7)]。いずれの抗菌薬も適正使用したにも関わらず耐性菌を選択しており、また耐性菌保有豚が速やかに同居豚へ耐性菌を伝播する実態も明らかにした。したがって、臨床獣医師はどのような抗菌薬であっても、使用すれば必ず耐性菌を選択することを念頭に、抗菌薬の治療効果を最大限にし、耐性菌の出現を最小化する投与を考えるべきである。

一方、現時点で伴侶動物はJVARMの対象外とされ、伴侶動物における薬剤耐性菌の実態は、個々の研究者による調査に委ねられている。そこでわが国のイヌ由来大腸菌について、医療及び獣医療で重要視されるFQ剤とCEP剤に対する耐性性状を検討した我われの研究を紹介した。非常に限定された調査であるものの、イヌにおいて高頻度にCEPあるいはFQに対する耐性大腸菌が出現し、FQとCEPに対する多剤耐性大腸菌が伴侶動物において高頻度に分離されることを示した。特に抗菌薬の使用頻度が高い大学の附属動物病院で耐性率が高い傾向にあり、抗菌薬の使用と相関するものであった。獣医師には治療上必要であれば適用外で人体用抗菌薬を使用することが認められているものの、当然、使用する責任も伴うものであり、できる限り有効性を維持し耐性菌を生み出さない努力が常に求められている。

さらに、今回の成績が示したように、大きくみればイヌ由来耐性大腸菌とヒト由来耐性大腸菌は遺伝学的に異なるものであるものの、極めて少数ながらイヌ由来株とヒト由来株で区別できないものもが認められた。イヌと飼い主の間で薬剤耐性大腸菌が伝播していることも報告[12)]されており、程度は不明ながらイヌからヒトへの伝播はあると思われる。したがって、伝播経路として重要な耐性大腸菌が多く含まれるイヌの糞便の処理には細心の注意を払う必要があると思われる。

参考文献

1）浅井鉄夫：*臨床と微生物*. 37:635-639, 2010.
2）FAO/OIE/WHO: Joint FAO/OIE/WHO expert workshop on non-human antimicrobial usage and antimicrobial resistance: scientific assessment, Geneva, December 1-5, 2003.
3）WHO: Use of quinolones in food animals and potential impact on human health, Report and proceedings of a WHO meeting, Geneva, June 2-5, 1998.
4）OIE: *OIE international standards on antimicrobial resistance*.p.17-27,2003.
5）WHO: WHO Global principals for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food, Geneva, June 5-9, 2000.
6）Hiki M, Kawanishi M, Abo H, et al.: *Foodborne Pathogens and Disease*、12:639-643, 2015.
7）Usui M, Sakemi Y, Uchida I et al: *Veterinary Microbiology*. 170:448-441, 2014.
8）Okubo T, Sato T, Yokota S, et al.: *J. Infect. Chemother.,* 20, 243-249,2014.
9）Sato T, Yokota S, Okubo T, et al.: *J. Vet. Med. Sci.*、75, 407-414, 2013.
10）Yokota S, Sato T, Okubo T, et al.: *Chemotherapy,* 58:52-59, 2012.
11）Sato T, Yokota S, Okubo T, et al.: *J. Med. Microbiol.*、63: 263-270, 2014.
12）Harada K, Okada E, Shimizu T, et al.: *Comp. Immunol. Micobiol. Infect. Dis.,* 35: 139-144, 2012.

臨床検査としての薬剤感受性試験の現状と問題点
特にグラム陽性菌を中心にして

獨協医科大学病院・感染制御センター

奥　住　捷　子

■内容

はじめに …… 145
1．我が国の検査室は、MRSA 関連の情報を正確に検査報告できているか …… 146
a．出題内容 …… 147
b．参加施設状況 …… 147
c．評価方法 …… 147
d．同定検査サーベイの成績 …… 147
ⅰ．同定菌種名 …… 147
ⅱ．同定機器／方法別の同定成績 …… 147
ⅲ．同定結果のまとめ …… 148
ⅳ．同定方法、付加コメント …… 148
e．薬剤感受性検査サーベイの成績 …… 148
ⅰ．薬剤感受性試験回答状況 …… 148
ⅱ．薬剤感受性試験の検査方法 …… 148
ⅲ．薬剤感受性試験のまとめ …… 148
2．私の戸惑いと悩み …… 149
最　後　に …… 149
参考文献 …… 150

はじめに

グラム陽性菌の耐性は、MRSA を初めとし、Methicillin のブレークポイントが *S. aureus* と同じ *Staphylococcus lugdunensis* と *S. lugdunensis* 以外の -CNS（coagulase negative *staphylococcus* 属）の Methicillin 耐性株、耐性菌にはなり難いとされていた肺炎球菌の PRSP 化、溶血性レンサ球菌のマクロライド系薬およびフルオロキノロン系薬の耐性株、β - ラクタム薬の低感受性化などや VRE[1]、その他各種グラム陽性桿菌の耐性化、*Clostridium difficile* などがある。これらのグラム陽性菌の耐性菌は、検出菌の正確な同定と薬剤感受性検査の迅速で的確な報告が臨床検査として重要であることはいうまでもない。

一方、医療法の改正により微生物検査室の院内設置義務がなくなったこと、また医療経済上、

院内の臨床微生物検査が年々減少の一途を辿り、外注化やFMS化する傾向が著明になってきた。医療施設内感染発生の報道や、臨床教育の前倒し、医学部の純粋な基礎教育・研究機関であった微生物学や細菌学講座が感染症・微生物学講座や感染制御学講座として改組、新設が行われはじめ早20年が過ぎ去ろうとしている。近年、感染制御部や感染症科を標榜する診療科の設立、若い医師層の感染症専門への志向、微生物関連検査項目の診療報酬が若干上昇傾向を示し、微生物検査に対する病院管理者の考え方も徐々に変わってきて、微生物検査を院内検査として利用できるよう組織を変更している病院もある。

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

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

微生物検査の外部精度管理

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

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

1．我が国の検査室は、MRSA関連の情報を正確に検査報告できているか

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

ａ．出題内容

【試料33】評価対象（同定・薬剤感受性検査）

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

微生物検査：本菌はカテーテル先端培養および血液培養から検出された

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

検査指定抗菌薬：MPIPC、CEZ、GMである。

ｂ．参加施設状況

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

ｃ．評価方法

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

ｄ．同定検査サーベイの成績

ｉ．同定菌種名

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

ⅱ．同定機器／方法別の同定成績

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

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

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

ⅲ．同定結果のまとめ

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

ⅳ．同定方法、付加コメント

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

ｅ．薬剤感受性検査サーベイの成績

ⅰ．薬剤感受性試験回答状況

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

ⅱ．薬剤感受性試験の検査方法

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

ⅲ．薬剤感受性試験のまとめ

※１）微量液体希釈法による薬剤感受性成績

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

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

※２）微量液体希釈法による薬剤感受性成績の解釈の回答状況

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

※３）ディスク拡散法による薬剤感受性成績

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

※４）CLSI/NCCLS 標準ディスク法の回答状況

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

２．私の戸惑いと悩み

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

最後に

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

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

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

微生物検査室の目下の課題は

１．感受性試験により新しい耐性機構を持つ耐性菌を適切に推定検出可能とする

２．疑義のある感受性パターンを示す株はすぐ相談

３．自施設で使用中の自動感受性測定装置の解析プログラムは CLSI の2009年版（2012年７月20日現在)。改変される CLSI のブレークポイント変更について、各施設で独自にシステム変更し対応している施設は全国で約10％の施設

４．感染性の強い３種病原体の多剤耐性結核菌、４種病原体の細菌：赤痢菌、チフス菌、パラチフスＡ菌、腸管出血性大腸菌、結核菌を安全に的確に迅速に検出し、届出なども的確に行う

５．新しい多剤耐性菌：学問的名称と感染制御で使う総称名[8)]

６．MRSA 以外の多剤耐性菌：二症例目を拡大させない工夫

７．医学教育・看護教育の中で感染制御微生物学の確立への支援

文　　献

１）Recommendations for preventing the spread of Vancomycin resistance: Recommendations of the hospital infection control practices advisory commitee (HICPAC) MMWR (Morbidity and Mortality Weekly Report) September 22, 1995/Vol.44/No.RR-12);

２）熊坂一成：臨床微生物検査の EQA と GLM. 臨床病理　46：124～131, 1998

３）Kumasaka,K., Kawano,K., Yamaguchi,K., *etal*: A study of quality assessment of clinical microbiology performance of independent laboratories in Tokyo-18-years of participation in the in the Tokyo Metropolitan Government External Quality Assessment Program.J Infect Chermther 7: 102～109. 2001.

４）巽　典之：臨床検査一口メモ No.196. なぜ微生物検査の外部精度管理があまり行われないのか？モダンメディア, 52(4)：125-128, 2006

５）わが国における臨床微生物学的検査の外部精度管理アセスメントに関する調査研究班（研究代表者：熊坂一成)：第２回臨床微生物検査の外部精度アセスメントに関する全国ワークショップの記録―わが国における臨床微生物検査外部精度管理調査の正しいあり方を求める、学識経験者・実務者による専門会議―平成16年度科学研究費補助金「基盤研究（C）(2)｣、平成17年１月

６）参考資料：平成10年度、平成11年度日臨技臨床検査精度管理報告書（社）日本臨床衛生検査技師会

７）参考資料：平成23年度日臨技臨床検査精度管理報告書（社）日本臨床衛生検査技師会、2012.1

８）CDC: Management of Multidrug-Resistant Organisms in Healthcare Settings, 2006
http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/ar/mdroGuideline2006.pdf

９）奥住捷子：医学検査の歩み－８　臨床微生物検査の外部精度管理. モダンメディア、52(9)：278～285、2006

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 …… 151
２．薬剤感受性検査法の変遷 …… 152
３．検査室で検出すべき耐性菌と実施状況 …… 152
　ａ．微生物検査室で検出すべき薬剤耐性菌 …… 152
　ｂ．報告可能な耐性菌とその同定方法 …… 153
　　ⅰ　グラム陰性菌 …… 153
　　ⅱ　グラム陽性菌 …… 154
４．薬剤感受性検査の問題点および課題 …… 155
　ａ．MRSA におけるバンコマイシンの MIC ２μg/mL の成績 …… 155
　ｂ．集計方法別の薬剤感受性率の相違 …… 155
　ｃ．CLSI のブレークポイント変更に伴う影響 …… 155
　ｄ．MDRA 判定における薬剤による相違 …… 155
　ｅ．JANIS 公開データと日常報告データとの相違 …… 156
　ｆ．その他 …… 156
５．薬剤感受性検査の精度管理について …… 156
　ａ．内部精度管理の実施状況 …… 156
　ｂ．外部精度管理実施状況 …… 156
　ｃ．精度管理に関する問題点 …… 156
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 …… 156
　ａ．ディスク法 …… 157
　ｂ．微量液体希釈法 …… 157
７．ま　と　め …… 157
参考文献 …… 157

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

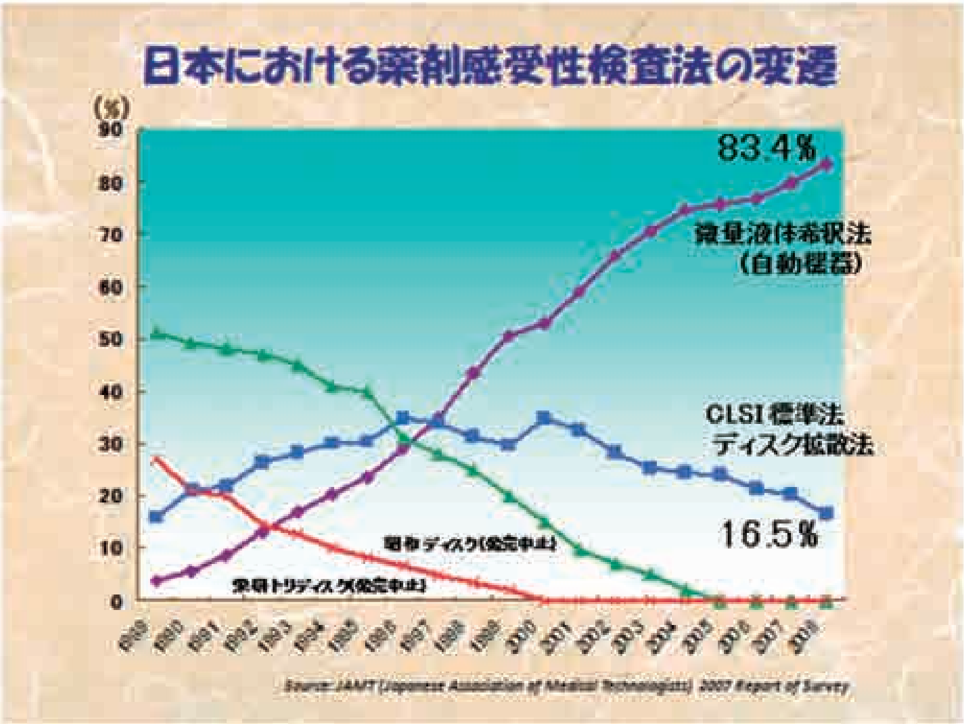
は、新たなスクリーニング検査や遺伝子検査も必要となってきている。

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。

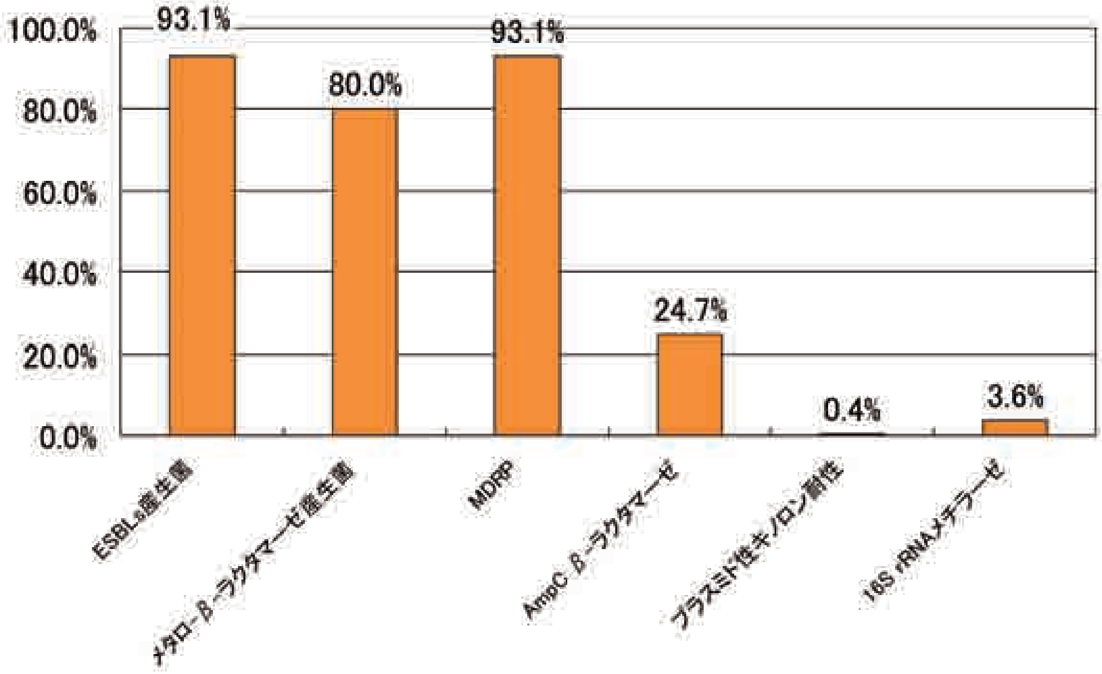
b．報告可能な耐性菌とその同定方法

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）

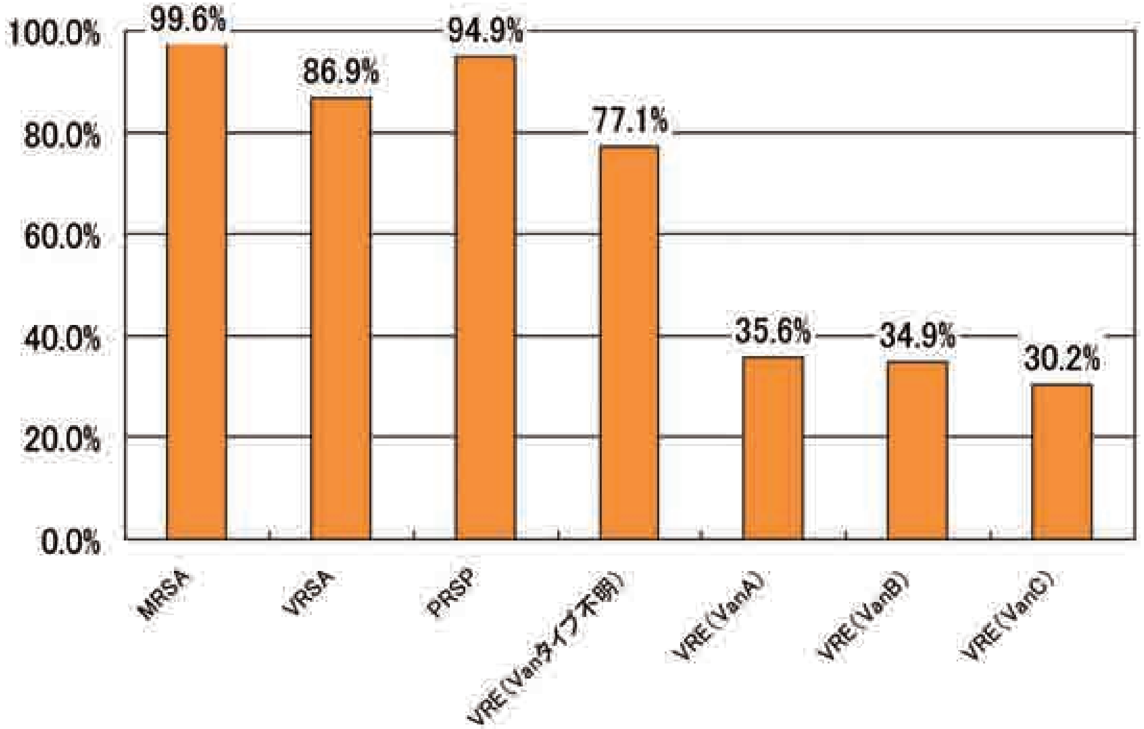
耐性菌（グラム陰性菌）同定法

耐性菌・種構	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≧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≧32	4	40.0%
H.influenzae-BLNAR	74	26.9%	ABPC≧4かつCTX≧0.5	66	89.2%	ニトロセフィン	14	18.9%
H.influenzae-BLPACR	62	22.5%	ABPC≧4かつCTX≧0.5	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≧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≧4、CFX≧8	246	89.8%	PBP2検査	40	14.6%
メチシリン耐性CNS	261	94.9%	MPIPC≧0.5	235	90.0%	CFX≦24mm	29	11.1%
VISA	231	84.0%	VCM8～16>	213	92.2%	VCM≧16	2	0.9%
VRSA	239	86.9%	VCM≧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≦19mmの場合MIC	12	4.6%
PISP	258	93.8%	PC判定基準	250	96.9%	MPIPC≦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 ２μg/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２μg/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２μg/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のブレー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≦４μg/mLと報告されている。このカテゴリーでは、BP変更後の≦２μg/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CPFXともに耐性（R）は151株、LVFX（R）・CPFX（S）が０株、LVFX（S）・CPFX（R）が75株であった（表３）。AMKおよびGM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

CRE 検出方法の実際

船橋市立医療センター　微生物検査室

長　野　則　之

■内容

１．はじめに　…… 158
２．日本で最初に発見されたIMP型メタロ - β - ラクタマーゼ　…… 159
３．世界規模で急速に拡散する新型カルバペネマーゼ　…… 159
　１）NDM-1型メタロ - β - ラクタマーゼ…… 159
　２）KPC型カルバペネマーゼ　…… 161
　３）OXA-48型カルバペネマーゼ …… 162
　４）今後注意すべきカルバペネマーゼ　…… 163
４．カルバペネマーゼ産生CRE検出の実際 …… 163
参考文献　…… 167

１．はじめに

カルバペネム系抗菌薬のイミペネム（IPM）やメロペネム（MEPM）は、腸内細菌科菌種、特に基質特異性拡張型β - ラクタマーゼ（ESBL）産生株やプラスミド性AmpCセファロスポリナーゼ産生株などに起因する重篤感染症治療の“last resort”として貴重な役割を果たしている。しかしながら過去十数年の間にこのカルバペネム系抗菌薬を分解するカルバペネマーゼ産生*Klebsiella pneumoniae*や*Escherichia coli*などのカルバペネム系薬耐性腸内細菌科菌種（Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*; CRE）の出現と急速な世界規模での広がりが感染症治療や公衆衛生に関わる深刻な問題となってきている。このような状況にあって、米国疾病予防管理センター（CDC）はThreat Report 2013の中でCREを薬剤耐性菌の危険度として“urgent”に分類している。また、世界保健機関（WHO）が2014年４月30日のニュースリリースで発表した“Antimicrobial resistance：global report on surveillance 2014”ではカルバペネム系薬耐性*K. pneumoniae*が世界的に公衆衛生上深刻な脅威となる薬剤耐性菌の一つとして挙げられており、政府、社会一丸となった取り組みが急務であると警鐘を鳴らしている。

腸内細菌科の菌種が産生する主なカルバペネマーゼとしては従来より知られているIMP型やVIM型（Verona integron-encoded metallo- β -lactamase）などのメタロ - β - ラクタマーゼに加え、近年新たに問題となってきているNDM型メタロ - β - ラクタマーゼ（New Delhi metallo- β -lactamase）、KPC型カルバペネマーゼ（*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase）、OXA-48型カルバペネマーゼがあげられる。これらのカルバペネマーゼを産生するCREは複数

の耐性因子を保有する場合も多く、日常検査で実施される薬剤感受性試験や表現型特性から耐性因子を推定することが困難になってきている。本セミナーでは自験例も含め、CRE の検出法について紹介する。

2．日本で最初に発見された IMP 型メタロ - β - ラクタマーゼ

IPM は1987年９月に国内で販売が開始されたが、1991年には尿路感染症由来の IPM 耐性 *Serratia marcescens* がカルバペネム分解酵素である IMP-1メタロ - β - ラクタマーゼ産生株であることが世界で初めて見いだされた[1)]。この “IMP” は “imipenem を分解する ” ことから “ 臨床的な impact が大きく ”、“ 臨床的に important である ” こと、“ β - ラクタム系薬による治療が impossible である ” こと、また伝説の小さい悪魔 “imp” の意味合いを込めて Arakawa らにより名付けられている。その後この発見に先んじて1988年に分離された伝達性のイミペネム耐性を示す *Pseudomonas aeruginosa*[2)] が同様に IMP-1を産生していることが明らかにされた。IMP 型メタロ - β - ラクタマーゼ産生株はアジア太平洋地域の国々、さらにヨーロッパ、カナダなどから報告されている。現在までに IMP 型には50近くの亜型が見いだされているが、なかでも IMP-1型が我が国をはじめアジア諸国で広がっている。特に国内では IMP-1型は腸内細菌科の菌種が産生するカルバペネマーゼの中で最も高頻度に認められており、2010年に厚生労働省で実施された調査でも多剤耐性腸内細菌科菌種 153株のうち72株（47.1％）から検出されている。ごく最近では IMP-1型に含まれ、IMP-1とは１アミノ酸違い（Ser196Gly）の IMP-6を産生する *E. coli* や *K. pneumoniae* の地域的な高頻度分離も報告されてきている。IMP-6産生株の場合、IPM の MIC より MEPM の MIC の方が３管程度高くなる傾向が見られることが特徴であり、時に IPM 感性、MEPM 耐性の表現形質を示すことから検出には注意が必要である。

3．世界規模で急速に拡散する新型カルバペネマーゼ

１）NDM-1型メタロ - β - ラクタマーゼ

NDM-1産生株は2008年にインド、ニューデリーでの入院歴を有するスウエーデン在住のインド人男性の尿路感染症由来 *K. pneumoniae* で初めて見いだされた。その後 NDM-1産生株はイギリス、インド、パキスタンを中心に広がり短期間で世界的に注目される CRE となっていった。インドやパキスタン地域で医療行為を受けイギリスなど自国へ帰国後感染症を呈した旅行者から NDM-1産生株が多数分離され問題となっていることからインド亜大陸との疫学的関連性がこの事象の背景として報告されている。事実2010年９月～10月にニューデリーで実施された調査では水道水の４％（２/50試料）、たまり水の30％（51/171試料）から NDM-1遺伝子が検出されたこと、さらに NDM-1産生株の中には赤痢菌やコレラ菌のような病原菌も含めそれまでに報告のない11菌種が認められたことが明らかとなった。このように広範な菌種間での急速な NDM-1遺伝子の伝達が世界規模での蔓延に繋がっていったと考えられる。また、インド亜大陸とは別にバルカン諸国や中東諸国が NDM-1産生株の保有地域となっている可能性も示唆されている。NDM-1遺伝子のほとんどが Inc A/C をはじめ種々の Inc タイプの伝達性プラスミド上に存在しているが、特定のプラスミドや単一の遺伝的構造、あるいは特定のクローンの世界的拡散への関わりは認められていない[3),4)]。

表１　国内におけるNDM型，KPC型及びOXA-48型カルバペネマーゼ産生株報告事例

	報告事例	菌種	渡航先
NDM型メタロ-β-ラクタマーゼ産生株			
1	2010年厚労省実態調査報告例	*Klebsiella pneumoniae*	無し
2	2010年厚労省実態調査報告例	*Klebsiella pneumoniae*	無し
3	2011年感染研解析依頼例	*Klebsiella pneumoniae*	インド
4	2013年感染研解析依頼例	*Escherichia coli*	バングラデシュ
5	2011年報告例	*Escherichia coli*	インド
6	2012年報告例	*Acinetobacter baumannii*	インド
7*	2013年報告例	*Klebsiella pneumoniae*	南アジア
8	2014年報告例	*Escherichia coli*	不明
9	2014年報告例	*Escherichia coli*	インド
10	2014年報告例	*Escherichia coli*	インド
KPC型カルバペネマーゼ産生株			
1	2010年厚労省実態調査報告例	*Klebsiella pneumoniae*	渡航先不明
2	2011年感染研解析依頼例	*Klebsiella pneumoniae*	北米
3	2012年感染研解析依頼例	*Klebsiella pneumoniae*	中国
4	2012年感染研解析依頼例	*Klebsiella pneumoniae*	インド
5	2012年感染研解析依頼例	*Klebsiella pneumoniae*	インド
6	2009年報告例	*Klebsiella pneumoniae*	米国
7	2012年報告例	*Klebsiella pneumoniae*	ブラジル
OXA-48型カルバペネマーゼ産生株			
1	2010年厚労省実態調査報告例	*Klebsiella pneumoniae*	インド
2	2012年報告例	*Klebsiella pneumonia* *Escherichia coli*	東南アジア
3*	2013年報告例	*Klebsiella pneumoniae*	南アジア
4	2014年報告例	*Klebsiella pneumoniae*	エジプト，トルコ

*同一事例より分離された同一菌株

(IASR Vol. 34 p. 238-239: 2013年8月号を改変)

表１に示すように国内では2010年にインドからの帰国事例で初めてNDM-1産生株が報告された[5)]。患者は2009年に現地医療機関へ入院し、その後栃木の大学病院に転院したが、NDM-1産生株は血液から検出された *E. coli* で見いだされている。以降現在までに10事例からNDM-1産生株が確認されているが、その内の２事例は前述の2010年実施の厚生労働省の調査でインドを含め海外渡航歴のない患者由来の *K. pneumoniae* から見いだされている。従ってNDM-1産生株は既に一部地域の医療施設や療養施設、さらに市中で拡散している可能性も考えられ医療機関においては十分警戒していく必要があると思われる。また、2012年には多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* で初めてNDM-1遺伝子が確認されている。我々は2013年にメディカルツーリズムで

来日した南アジア系男性患者から NDM-1産生 *E. coli* ならびに NDM-1・OXA-181同時産生 *K. pneumoniae* を検出し報告している[6]。

現在 NDM 型には12の亜型が存在しているが NDM-1が最も多く認められている。NDM-1はアズトレオナムを除く全ての β - ラクタム系薬に対する分解活性を有する。また、NDM-1遺伝子をコードするプラスミドは他の β - ラクタマーゼ遺伝子、キノロン耐性遺伝子、16S rRNA methyltransferase 遺伝子などの耐性因子を同時に保有していることから NDM-1産生株の多剤耐性化が認められる。

2）KPC 型カルバペネマーゼ

KPC 型産生株としては1996年に米国で ICARE（Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology）のプロジェクトの参加施設であるノースカロライナ州の病院より KPC-2産生 *K. pneumoniae* が最初に検出されている。2000-2001年にはニューヨーク大学メディカルセンターでの KPC-3産生 *K. pneumoniae* のアウトブレイクが報告され KPC 型産生株はニューヨーク近傍、東海岸を中心に国内へ広がっていった。2004年頃までは KPC 型産生株は米国からのみ検出されていたが、その後2005年のフランスからの報告を皮切りに、イスラエル、ギリシャ、イギリスなどのヨーロッパ諸国、南米及び中国、韓国、台湾など我が国近隣のアジアの国々からも報告されてきている。これらの中には米国で医療サービスを受けたこととの関連性が示唆される事例も含まれていた。また、中国やブラジルでは病院などの排水や汚水からも KPC 型産生株が検出されている。CDC によれば特に米国で問題となっている KPC 型産生 *K. pneumoniae* をはじめとするカルバペネマーゼ産生 CRE 感染事例が44の州で確認されており、さらにはこのような CRE に血流感染した場合の致死率が50％までに達していることへの危機感を背景に、Threat Report 2013で最上レベルの危険度を付与し警告している。現在 KPC 型には KPC-2～ KPC-19の亜型が見いだされているが、米国を含め報告されている KPC 型の殆どが KPC-2とこれと１アミノ酸違いの KPC-3（His272Tyr）である。なお、KPC-1については登録塩基配列の修正により KPC-2と同一であることが確認されている。KPC 型産生 *K. pneumoniae* では特定のクローンである ST-258が米国やフィンランド、ポーランド、ノルウェーなどヨーロッパの国々で多い。KPC 型を産生する菌種として米国では *K. pneumoniae* が優位を占めているが *E. coli*、*Salmonella enterica* serovar Cubana、*Enterobacter cloacae*、*Klebsiella oxytoca*、*Proteus mirabilis*、*Citrobacter freundii* なども報告されている。このような腸内細菌科の種々の菌種の間での KPC 型産生株の急速な拡散には、KPC 型遺伝子がトランスポゾン構造に担われ、伝達可能な広域宿主プラスミド上に存在すること、さらには上述の KPC 型産生 *K. pneumoniae* の特定クローン ST258の関わりが考えられる。

国内における初めての KPC 型産生株の報告は、2008年に急性骨髄性白血病患者の尿より分離された KPC-3産生 *K. pneumoniae* で ST258と同定された。本患者は在住先のニューヨークの病院から九州の大学病院に転院してきており、入院先の病院からの持ち込みが強く示唆された。２例目は2010年に海外の医療機関での入院・手術歴のある外傷患者の腹部及び尿より分離された KPC-2産生 *K. pneumoniae* で、先の厚生労働省の調査で検出されている。以降現在までに５事例から KPC 型産生 *K. pneumoniae* が確認されているが、その内２事例はインド、残りの３事例はそれぞれ北米、中国、ブラジルへの渡航歴を有していた（表１）。

KPC-2や KPC-3はカルバペネム系薬の分解活性が中程度であり MIC が低値を示す場合があ

る。また広域スペクトラムセファロスポリン系薬に対する分解活性はセフォタキシム（CTX）では中程度で、セフタジジム（CAZ）では極めて低い。さらにセフォキシチンの分解活性も極めて低い。KPC 型産生株は NDM 型産生株と同様にβ-ラクタム系薬、フルオロキノロン系薬、アミノグリコシド系薬を含めた多系統の抗菌薬に耐性を示す場合が多い。

3）OXA-48型カルバペネマーゼ

OXA-48カルバペネマーゼは2001年にトルコ、イスタンブールの臨床由来 *K. pneumoniae* で初めて確認された。その後も2006年5月～2007年1月にかけてのイスタンブールでの OXA-48産生 *K. pneumoniae* の大規模アウトブレイクをはじめ OXA-48産生株の報告の殆どがトルコと関連した事例であり、*E. coli* や *C. freundii* での産生株も見いだされていた。2009年以降は欧州各国、地中海沿岸地域、中東地域にわたって *K. pneumoniae* や *E. coli* をはじめ種々の腸内細菌科の菌種で OXA-48産生株感染症の散発事例やアウトブレイク事例が報告され始めた。また、ごく最近ではカナダや北米からも報告されてきている。

OXA-48型には OXA-48の他に OXA-162、OXA-163、OXA-181、OXA-204、OXA-232、OXA-247などの亜型がこれまでに報告されている。OXA-48は、*Shewanella oneidensis* が染色体依存性に産生する OXA-54とアミノ酸配列が92％程度一致し、OXA-48の起原を考える上で興味深い示唆を与える。OXA-48と類似した OXA-181は2007年にインドで分離された *K. pneumoniae* や *E. coli* で最初確認され、その後インドからの輸入事例がオランダ、フランスなどいくつかの国で報告されている。OXA-181は4アミノ酸違いである OXA-48と類似した酵素特性を有し、カルバペネム系薬や CAZ などの広域スペクトラムセファロスポリン、モノバクタム系薬に対する分解活性は低い。なお、OXA-181は *Shewanella xiamenensis* などの *Shewanella* 属が染色体性に保有する OXA 型β-ラクタマーゼと類似している。OXA-163はアルゼンチンで初めて報告され、その後エジプトで海外渡航歴のない患者から分離されている。OXA-163ではカルバペネム系薬の分解性がOXA-48より低く、広域スペクトラムセファロスポリン系薬の分解活性が高い特性を示す。

我々は2012年11月に国内で初めて OXA-48産生株を確認した[7]。患者は東南アジアの医療機関での治療歴を有し千葉県内の医療機関に転院したが、入院直後採取の気管吸引痰から *E. coli*（Ec株）及び *K. pneumoniae*（Kp1株）、さらに鼠径部擦過物より *K. pneumoniae*（Kp2株）の3株が検出された。これら3株における IPM と MEPM の MIC は軽度上昇しており、また、タゾバクタム/ピペラシリン（TAZ/PIPC）も耐性であった。*K. pneumoniae* Kp1株は広域スペクトラムセファロスポリン系薬、モノバクタム系薬感性で、OXA-48遺伝子のみ保有していた。一方 *K. pneumoniae* Kp2株と *E. coli* Ec 株はセフェム系薬、モノバクタム系薬耐性で、OXA-48遺伝子に加えそれぞれ CTX-M-15と CTX-M-55 ESBL 遺伝子を保有していた。さらに *E. coli* Ec 株ではアミノグリコシド系薬、フルオロキノロン系薬なども耐性で、多剤耐性を獲得していた。OXA-48遺伝子の周辺構造の解析の結果、2007年トルコのアウトブレイク株に認められた Tn*1999.2*と一致していた。以降現在までに4事例から OXA-48型産生株が確認されているが、これには前述の2013年の南アジア系男性患者由来の NDM-1・OXA-181同時産生 *K. pneumoniae* および OXA-181産生 *K. pneumoniae* の事例が含まれる[6]（表1）。

OXA-48カルバペネマーゼはペニシリン系薬の分解活性が高いがカルバペネム系薬の分解活性は低いか中程度という酵素特性を有し MIC が低値を示す場合がある。また広域スペクトラムセファロスポリン系薬に対する分解活性は CTX などでは極めて低く、CAZ ではほとんど見られ

ない。しかしながらOXA-48産生株の多くがCTX-M-15などのESBLを共産生しており、また、CMY型やDHA型などのプラスミド媒介性AmpCを共産生する株も出現しており、その結果広域スペクトラムセファロスポリン系薬にも耐性を示す株もしばしば分離されている。

4）今後注意すべきカルバペネマーゼ

GES-5はクラスＡのGES（Guiana extended-spectrum）型ESBLの亜型で、カルバペネム分解性を示す。GES-5は2004年にギリシャ、アテネで*E. coli*から初めて確認されたが、韓国、ブラジル、カナダ、中国、スペイン、南アフリカ、ドイツなどで*Enterobacteriaceae*や緑膿菌からも検出されている。このGES-5遺伝子はインテグロンに担われていることからその広がりが警戒されており、また、隣国の韓国ではGES-5産生*K. pneumoniae*によるアウトブレイクが報告されている[8)]。

４．カルバペネマーゼ産生CRE検出の実際

厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）によればカルバペネム系薬のイミペネムに耐性を示す*K. pneumoniae*と*E. coli*の分離率は2013年でそれぞれ0.2％と0.1％と現状では低率である。しかしながらOXA-48型、KPC型、NDM型、VIM型産生CREが世界規模で拡散している一因として、これらCREの流行地域への海外旅行や現地医療機関への入院、メディカルツーリズムが関わっている危険性を認識することが重要である。厚生労働省では2013年３月22日付の事務連絡で海外の医療機関において入院治療を受けていた患者を受け入れる際には各種耐性菌のスクリーニングを実施するよう呼びかけている。しかしながらKPC型やOXA-48型産生

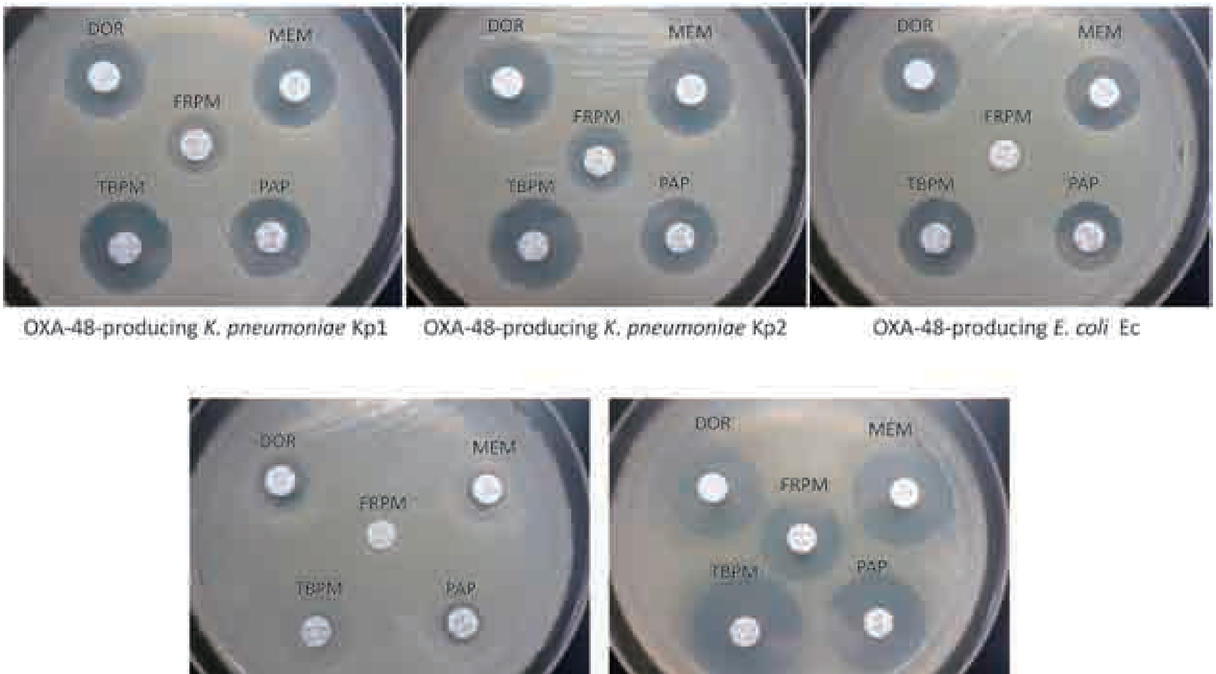


図１　OXA-48産生Enterobacteriaceaeにおけるメロペネム、ドリペネム、ファロペネム、テビペネム、パニペネムディスクを用いた薬剤感受性試験

表２　表現型特性に基づく耐性因子の推定

耐性因子		ESBL	AmpC セファロスポリナーゼ		カルバペネム系薬耐性メカニズム				
					カルバペネマーゼ			AmpC＋外膜蛋白ポーリン減少/欠損	ESBL＋外膜蛋白ポーリン減少/欠損
		CTX-M	染色体性	プラスミド性	NDM-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ	KPC 型カルバペネマーゼ	OXA-48 型カルバペネマーゼ		
クラス（Ambler 分類）		A	C		B	A	D	／	／
酵素活性阻害試験	クラブラン酸	＋	−		−	±	−	−	＋
	ボロン酸	−	＋		−	＋	−	＋	−
	SMA	−	−		＋	−	−	−	−
	クロキサシリン	−	＋		−	−	−	＋	−
アズトレオナムに対する感受性		R	variable		S	R	S	R	R

ボロン酸, 3-アミノフェニルボロン酸; SMA, メルカプト酢酸ナトリウム

株の中にはカルバペネム系薬の MIC が低値を示し薬剤感受性試験の成績からは検出が困難となる場合があり注意が必要である。ファロペネムディスクで二重阻止円を形成するか又は阻止円を形成しないことで、これらのカルバペネマーゼ産生 CRE を効率よく検出し得る（感度98％/特異度87％）ことが報告されている[9]（図１）。

各種 CRE の表現型特性を表２に示す。KPC 型産生株の場合、TAZ/PIPC に高度耐性を示すこと、カルバペネマーゼ産生性を検出するためのエルタペネムや MEPM ディスクを用いた変法ホッジ試験陽性、KPC 型の酵素阻害剤であるアミノフェニルボロン酸（APB）を用いた酵素阻害試験で陽性を示すことから推定され得る（図２A、B）。しかしながら我々の経験したプラスミド性 AmpC セファロスポリナーゼの DHA-1産生性で且つ外膜蛋白ポーリンの減少/欠損を有する *K. pneumoniae* 株の場合、IPM や MEPM の MIC が高値を示し、変法ホッジ試験陽性、カルバペネム系薬を基質とした APB による酵素阻害試験陽性であった。従って表現型特性から KPC 産生株が疑われる場合、カルバペネム系薬のディスクに AmpC セファロスポリナーゼの阻害剤であるクロキサシリンを添加した酵素阻害試験を行い、陽性であれば AmpC 産生性、陰性であれば KPC 産生性が推定可能である。

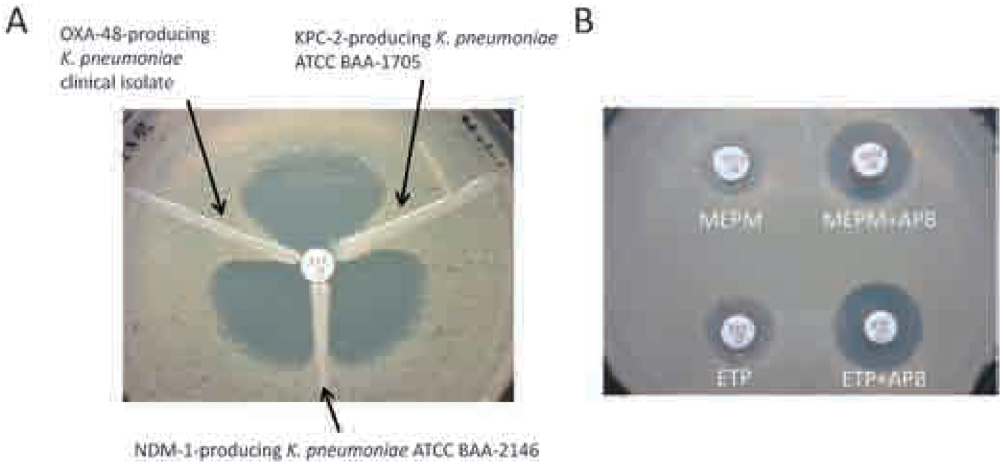


図２　各種カルバペネマーゼ産生株の表現型特性

(A)　エルタペネムディスクを用いた変法ホッジ試験。

(B)　KPC-２産生 K. pneumoniae ATCC BAA-1705でのアミノフェニルボロン酸（APB）を用いた酵素阻害試験。

また、OXA-48型産生株は KPC 型産生株と同じく TAZ/PIPC に高度耐性を示し、変法ホッジ試験陽性となるが、APB などを用いた各種β-ラクタマーゼ酵素阻害試験では鑑別できず OXA-48型遺伝子の検出が必須となる。

NDM 型産生株については、荒川らが考案したメタロ-β-ラクタマーゼ阻害剤のメルカプト酢酸ナトリウム（SMA）と IPM ディスクあるいは MEPM ディスクを用いた SMA ディスク法による酵素阻害試験陽性でスクリーニング後 NDM 型遺伝子の検出を行う。なお、NDM 型産生株の場合変法ホッジ試験では必ずしも陽性とならないことに注意が必要である（図２A）。しかしながら、同じメタロ-β-ラクタマーゼである IMP-1型産生株は変法ホッジ試験で明瞭な陽性を示す。

これらの新型カルバペネマーゼ産生株は複数の耐性因子を保有する場合が多く、表現型のみに基づく検出や鑑別が困難となってきている。最近我々はメディカルツーリズムで来日した南アジア系患者から NDM-1、OXA-181カルバペネマーゼ、CTX-M-15、CMY-4など複数の耐性因子を

表３　IMP-1メタロ - μ - ラクタマーゼ産生 *Citrobacter freundii* における測定機種の違いによる MIC の乖離

Antimicrobial agent	MIC (μg/ml)		
	MicroScan	Phoenix	VITEK 2
ABPC	>16	>16	≥32
PIPC	≤8	≤4	16
TAZ/PIPC	≤8	≤4	
CEZ	>16	>16	≥64
CTM	16	>16	32
CTX	8	>32	≥64
CAZ	64	>16	≥64
CPDX	64	>4	
SUL/CPZ	≤16		
CPR	≤8	16	
CFPM	2	>16	2
CMZ	>32	>32	≥64
AZT	≤0.5	≤2	≤1
IPM	≤1	≤1	≥16
MEPM	≤0.5	≤1	≥16
GM	2	≤2	≤1
AMK	≤4	≤8	≤2
LVFX	≤0.5	≤1	0.5
CPFX	≤0.25	≤0.5	≤0.25
MINO	≤2	2	4
FMOX	≤8	32	32

保有する広範囲抗菌薬耐性 *K. pneumoniae* を検出しているが、変法ホッジ試験で陽性を示したことから何らかのカルバペネマーゼの産生性が推定されたものの、各種酵素阻害試験では耐性因子を推定することができなかった。

加えて日常検査で使用する自動細菌検査システムの機種による測定値の違いが、MIC の正確性を担保出来ない要因となっている。筆者らは IMP-1メタロ - β - ラクタマーゼ産生株のカルバペネム系薬の MIC について国内で汎用されている MicroScan、Phoenix、Vitek 2による測定値の大幅な乖離現象も見出しており、Vitek 2ではイミペネムとメロペネムの MIC が ≥16㎍/ml と高度耐性を示したのに対して、MicroScan ではイミペネムが ≤ 1 ㎍/ml、メロペネムが ≤0.5㎍/ml と感性であった（表３）。その結果、“hidden carbapenemase” として見逃され、院内に拡散していくことが懸念される。

CRE をはじめ多種多様な薬剤耐性菌が医療機関をふくめ国内に入ってくることは避けられない。そこで海外からの新型耐性菌の流入を引き続き監視し、上述のような日常検査の問題点を認識した上で早期検出と適切な感染制御の実施によりそれらの国内での蔓延を防止する必要がある。

参考文献

1）Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, Yoshimura F, Kato N. Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. Antimicrob Agents Chemother. 1994; 38: 71-8.

2）Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, and Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 35: 147-51.

3）Poirel L, Dortet L, Bernabeu S, Nordmann P. Genetic features of bla_{NDM-1}-positive Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55: 5403-7.

4）Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Worldwide dissemination of the NDM-Type carbapenemases in Gram-negative bacteria. Biomed Res Int. 2014; 2014: 249856. (http://dx.doi.org/10.1155/2014/249856)

5）Chihara S, Okuzumi K, Yamamoto Y, Oikawa S, Hishinuma A. First case of New Delhi metallo-β-lactamase 1-producing *Escherichia coli* infection in Japan. Clin Infect Dis. 2011; 52: 153-4.

6）外山雅美，長野由紀子，柴山恵吾，長野則之，荒川宜親．海外より来日した患者から検出されたNDM-1メタロ-β-ラクタマーゼとOXA-181カルバペネマーゼ等を同時に産生する広範囲抗菌薬耐性肺炎桿菌. IASR 2013；34：237-8.

7）Nagano N, Endoh Y, Nagano Y, Toyama M, Matsui M, Shibayama K, Arakawa Y. 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. 2013; 66: 79-81.

8）Jeong SH, Bae IK, Kim D, Hong SG, Song JS, Lee JH, Lee SH. First outbreak of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates producing GES-5 and SHV-12 extended-spectrum β-lactamases in Korea. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49: 4809-10.

9）Day KM, Pike R, Winstanley TG, Lanyon C, Cummings SP, Raza MW, Woodford N, Perry JD. Use of faropenem as an indicator of carbapenemase activity in the *Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol. 2013; 51: 1881-6.

院内感染症制御のための監視システム

東海大学医学部基礎医学系生体防御学
藤　本　修　平

■内容

1．はじめに …… 168
2．薬剤耐性菌による感染症制御に何が必要か …… 169
　a．選択圧の除去 …… 169
　b．より厳密な「感染対策」…… 170
3．施設レベルでの対策と地域、国、地球レベルでの対策 …… 170
4．菌の院内拡散と耐性菌の拡散・院内感染症 …… 170
5．菌の院内拡散を見える化する技術 …… 171
　a．２項分布による「菌の異常集積の自動検出」…… 171
　b．菌の異常集積警告スコア累積（Σ -alert） …… 172
　c．菌の異常集積警告スコア累積マトリクス（Σ -alert matrix） …… 174
　d．アンチバイオグラムの自動分類と２次元キャリアマップ（2DCM） …… 175
6．感染症制御のための監視システム …… 178
　a．地方・国レベルでの監視システム …… 178
　　ⅰ．感染症法に基づいた監視システム …… 178
　　ⅱ．感染症法に基づかない国の監視システム（JANIS） …… 179
　　ⅲ．学会などによる監視システム …… 180
　b．施設レベルでの監視システム …… 180
　　ⅰ．菌の院内拡散を検出するアルゴリズムを持ったシステム …… 180
　　ⅱ．細菌検査システムの発展型 …… 181
　c．複数施設を監視するシステム …… 181
7．院内感染症対策の問題点と「院内感染症制御のための監視システム」の将来 …… 182
参考文献 …… 183

1．はじめに

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

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

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

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

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

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

２．薬剤耐性菌による感染症制御に何が必要か

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

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

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

ａ．選択圧の除去

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

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

b．より厳密な「感染対策」

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

3．施設レベルでの対策と地域、国、地球レベルでの対策

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

4．菌の院内拡散と耐性菌の拡散・院内感染症

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

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

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

５．菌の院内拡散を見える化する技術

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

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

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

ａ．２項分布による「菌の異常集積の自動検出」

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

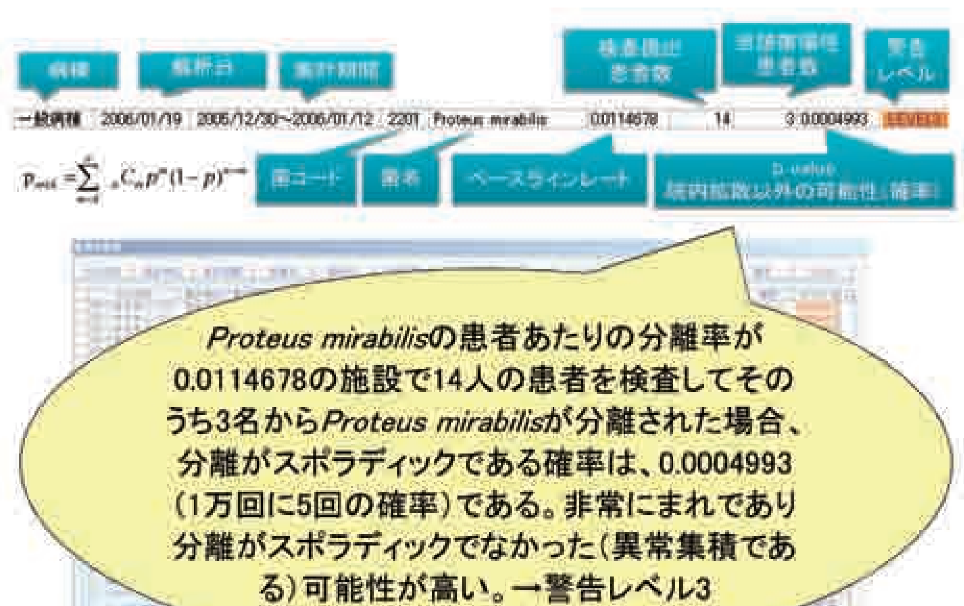


図１　菌の異常集積の自動検出

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

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

b．菌の異常集積警告スコア累積（Σ -alert）

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

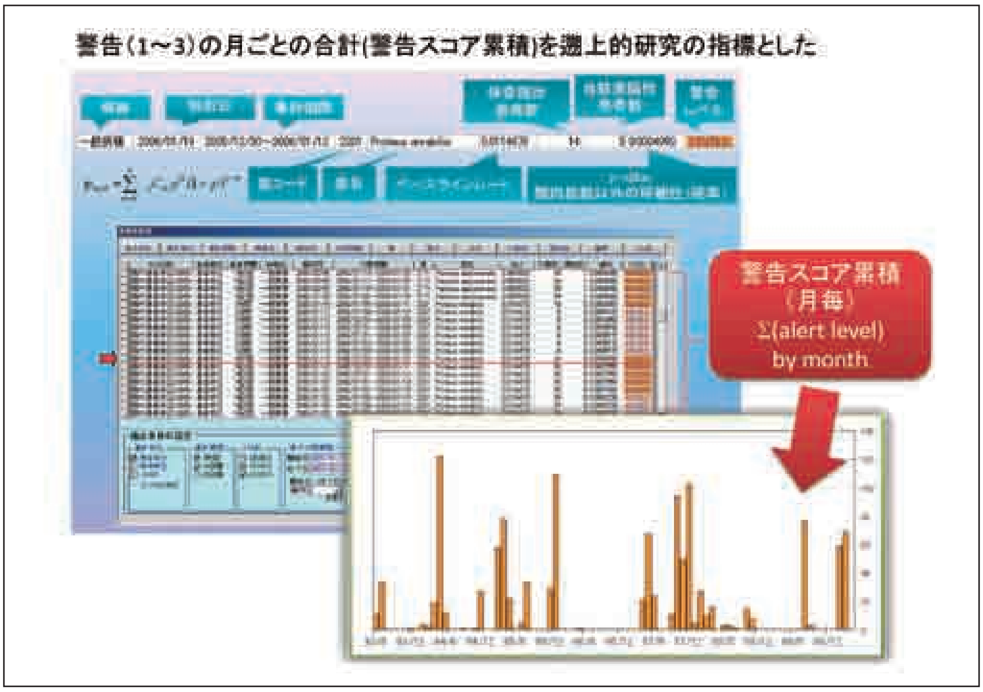


図２　菌の異常集積警告スコア累積（Σ -alert）

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

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

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

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

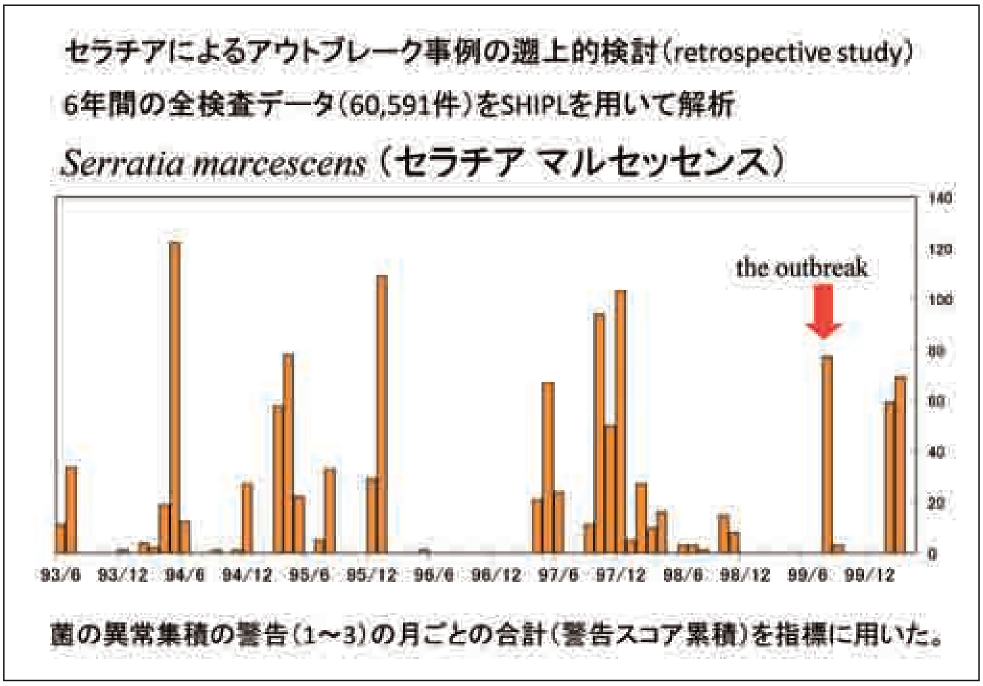


図３　菌の異常集積警告スコア累積（Σ -alert）

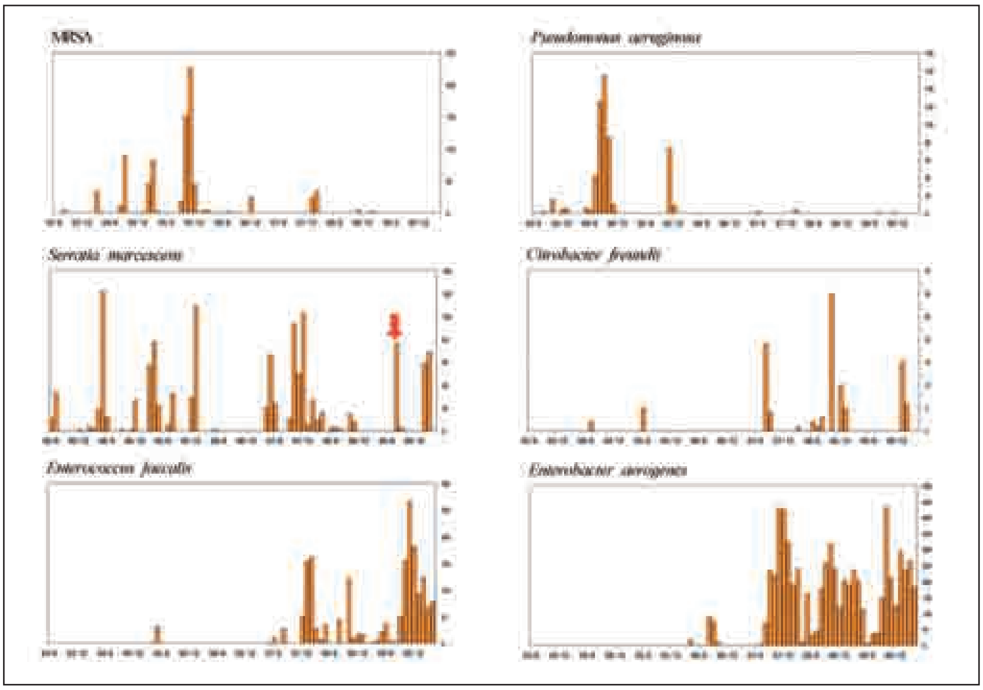


図４　セラチアアウトブレイク経験施設の警告スコア累積（Σ -alert）

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

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

ｃ．菌の異常集積警告スコア累積マトリクス（Σ -alert matrix）

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

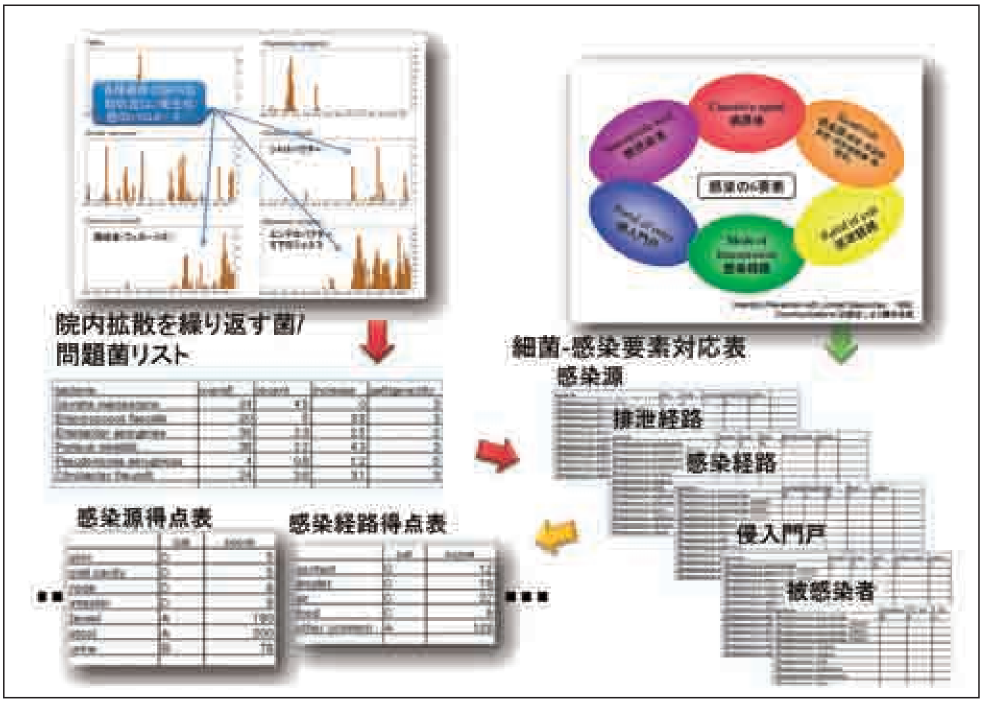


図５　感染対策の問題点を明らかにするアルゴリズム

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

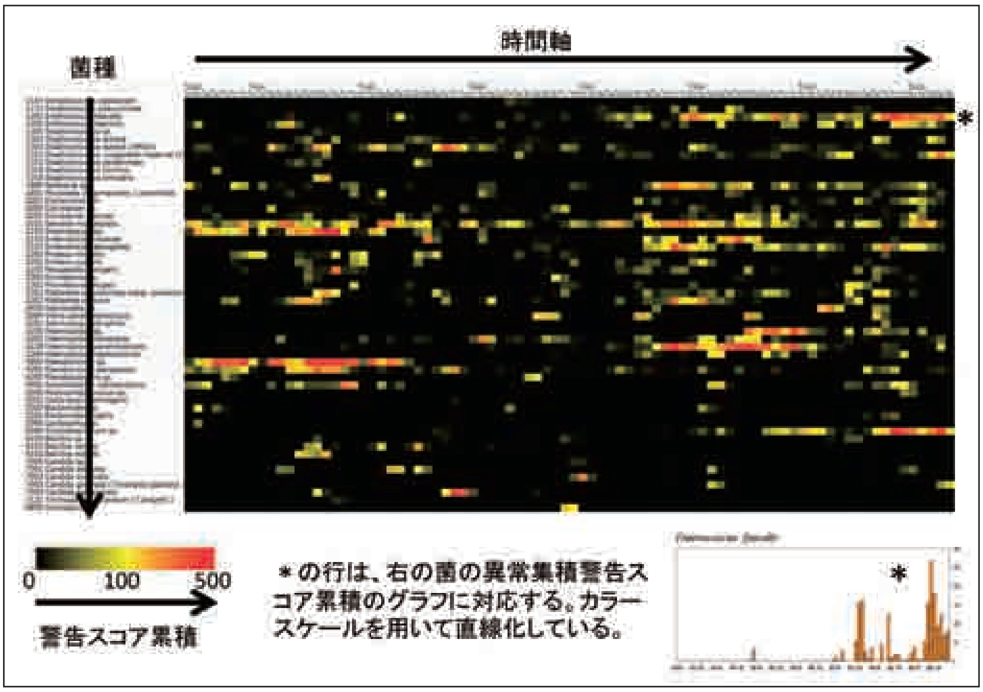


図６　菌の異常集積警告スコア累積マトリクス（Σ -alert　matrix）

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

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

ｄ．アンチバイオグラムの自動分類と２次元キャリアマップ（2DCM）

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

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

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

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

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

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

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

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

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

菌株	PIPC	GM	CPFX	
1	R	I	I	①
2	S	S	I	②③
3	S	I	R	②④
4	S	R	R	④
5	S	S	S	③

注）一般に、SとI、IとRのブレークポイントのMICの違いはx2であり、測定誤差範囲である。従って、分類の基準に使うべきでない（IはSでもRでもある）。

i. 菌株1は、PIPCにRで他の菌株はSなので、他のどの株とも別の株であると言って良い。

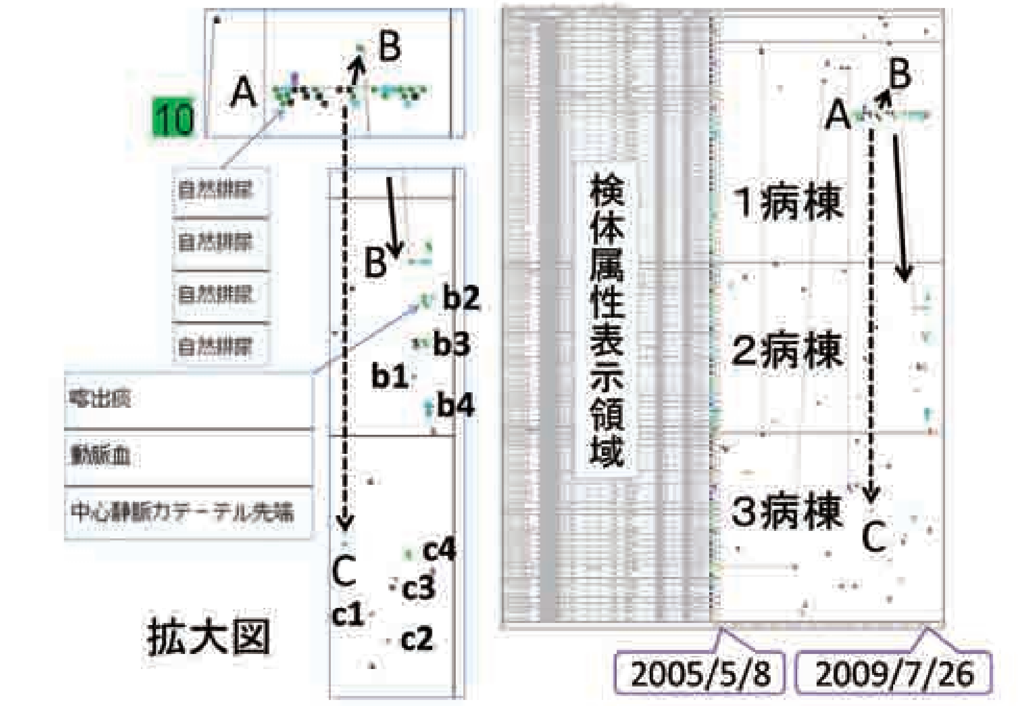
ii. 菌株2は、GMにSであるので、GMにRの菌株4とは別の株と言って良い。
菌株3とは、SとRの不一致がないので同じ株であるかもしれない。
菌株5とは、SとRの不一致がないので同じ株であるかもしれない。

iii. 菌株4はGMにRであるので菌株5とは別の株と言って良い。
菌株3とは、SとRの不一致がないので同じ株であるかもしれない。

従って、菌株2は②グループの菌株3と同じ菌株かもしれなく、同時に③グループの菌株5と同じ株であるかもしれない。菌株3は同時に、④グループの菌株4と同じグループであるかもしれない。

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

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



横軸は時間、縦軸は病棟。四角はアンチバイオグラムのグループを色と番号で示す（原図はカラー）。同じ患者由来の菌は線で結ばれる。2008年1月以降、グループ10の菌株が患者Aの尿から分離されるようになり、同じ病棟の患者Bに感染、Bが2病棟に移るとさらに、b1～b4の4名に感染、b2では感染症を発症。3病棟でも4名が感染したことが分かる。

図８　2DCM; *Proteus mirabilis* ４年間の解析

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

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

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

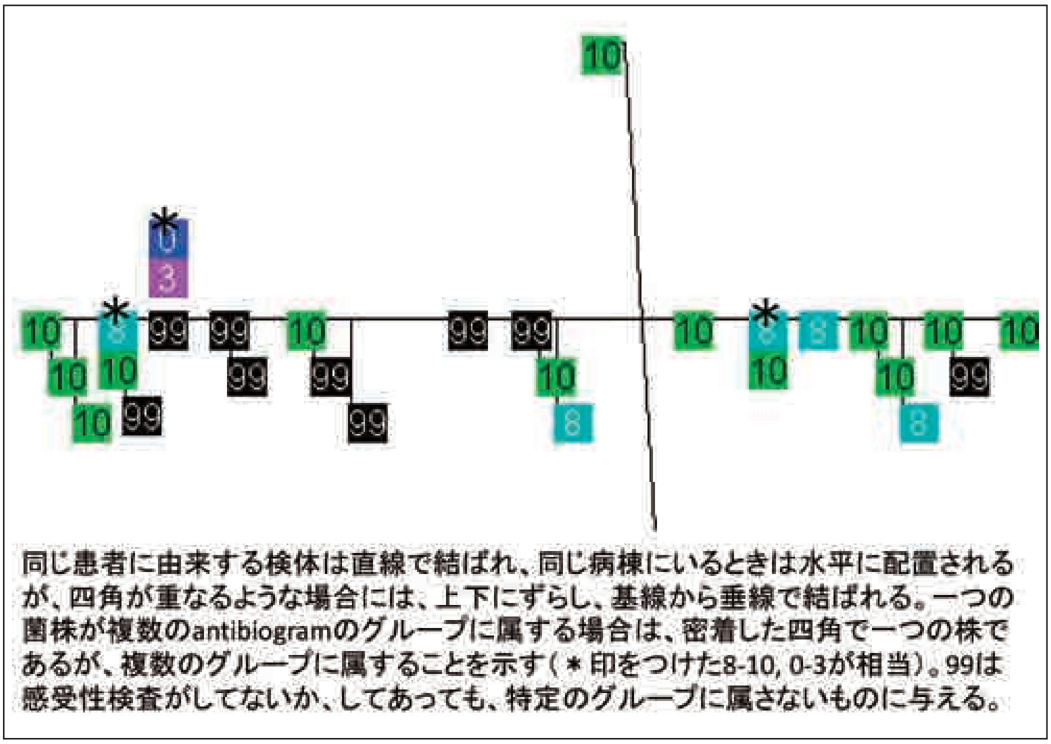


図９　2DCM のマッピングの詳細

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

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

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

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

６．感染症制御のための監視システム

ａ．地方・国レベルでの監視システム

ｉ．感染症法に基づいた監視システム

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

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

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

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

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

ii．感染症法に基づかない国の監視システム（JANIS）

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

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

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

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

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

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

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

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

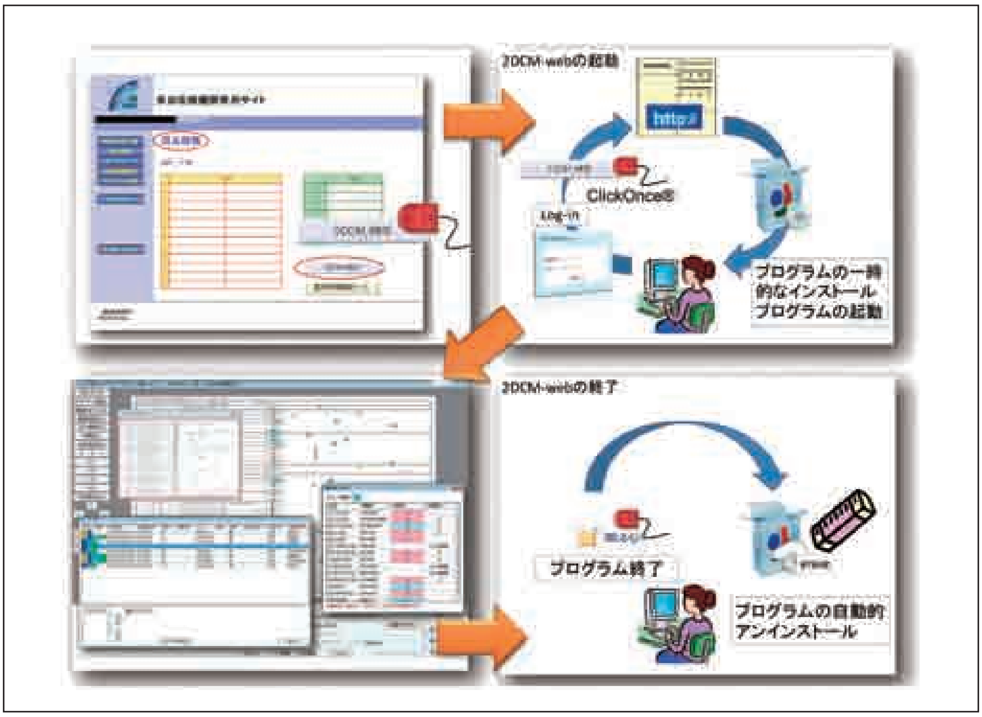


図10　2DCM の web アプリケーション化と JANSI への実装（2DCM-web）

ⅲ．学会などによる監視システム

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

b．施設レベルでの監視システム

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

ⅰ．菌の院内拡散を検出するアルゴリズムを持ったシステム

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

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

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

ii．細菌検査システムの発展型

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

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

c．複数施設を監視するシステム

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

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

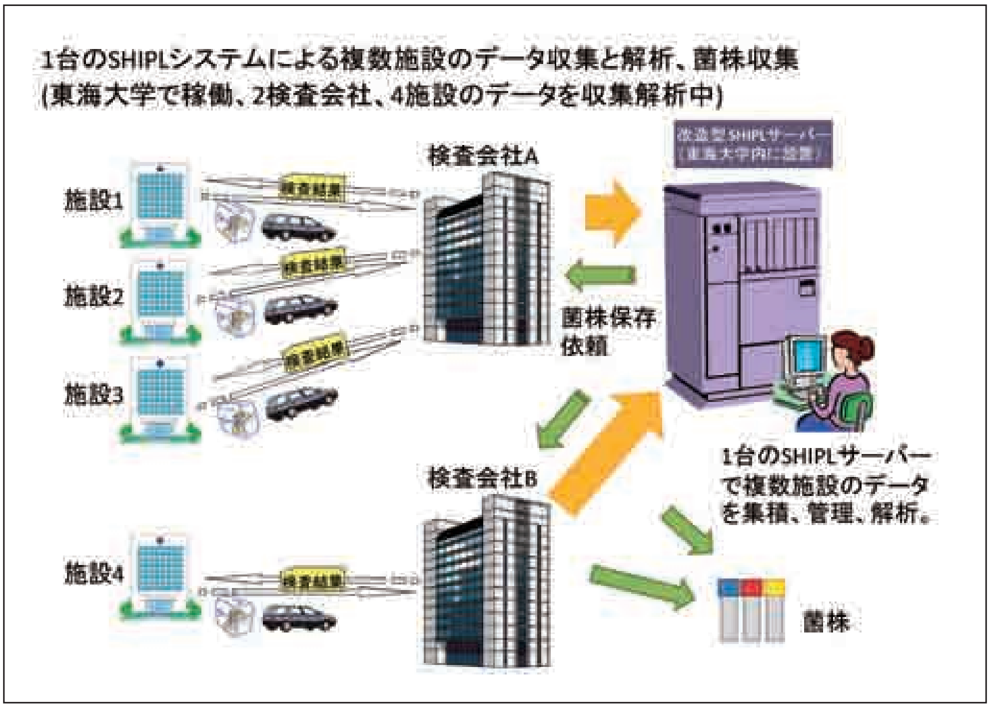


図11　複数施設を監視するシステム

7．院内感染症対策の問題点と「院内感染症制御のための監視システム」の将来

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

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

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

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

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

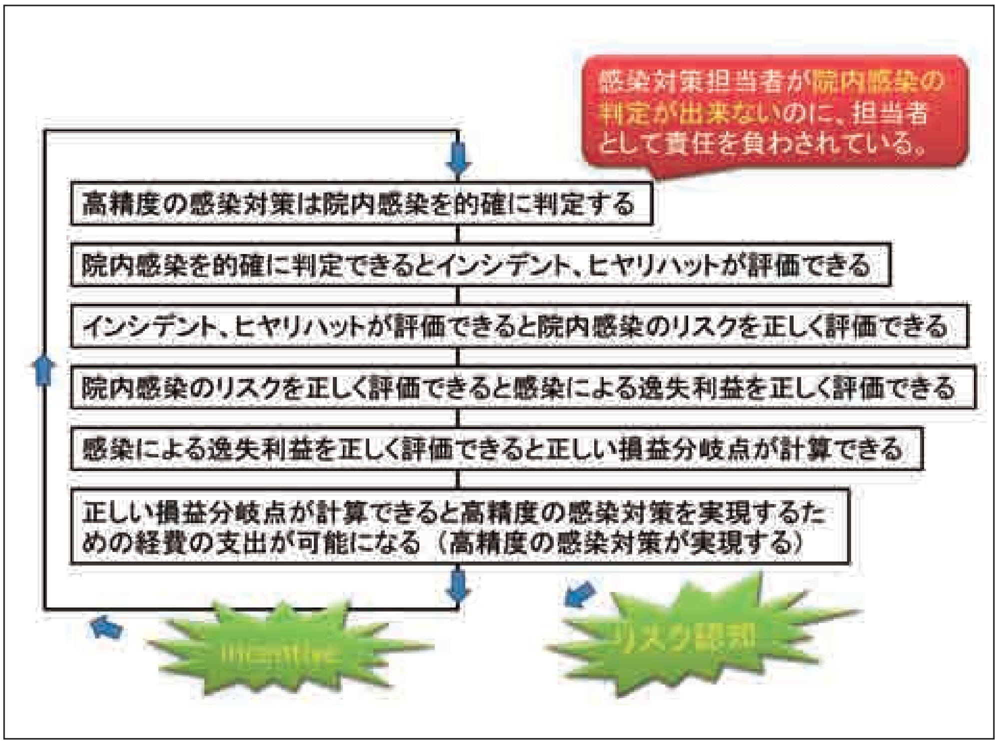


図12　感染対策の高精度化と院内感染のリスク評価が作る良循環

参考文献

1．厚生労働省．第１回地域保健対策検討会議事録　http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000000p48x.html,

2．Graham DR, Dixon RE, Hughes JM, Thornsberry C. Disk diffusion antimicrobial susceptibility testing for clinical and epidemiologic purposes. Am J Infect Control, 1985; 13: 241-9.

3．Jackson MM: General Principles of Epidemiology: IN: APIC Infection Control and Applied Epidemiology: Princeples and Practice. Mosby, St. Louis, 1996.

4．Lynch, P et al: Introducton to Section II, The Six Links in the Chain (Chain of Infection): Gina Pugliese, ed. IN: Infection Prevention with Limited Resources. ETNA Communications LLC, Chicago, IL, USA, 1997. p. 79.

5．Moser SA, Jones WT, Brossette SE. Application of data mining to intensive care unit microbiologic data. Emerg Infect Dis, 1999; 5: 454-7.

6．Galdbart JO, Morvan A, Solh N. Phenotypic and molecular typing of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains susceptible to gentamicin isolated in france from 1995 to 1997. J Clin Microbiol, 2000; 38: 185-90.

7．de Man P, Verhoeven BA, Verbrugh HA, Vos MC, van den AnkerJN. An antibiotic policy to prevent emergence of resistant bacilli. Lancet, 2000; 355: 973-8.

8．Brossette SE, Sprague AP, Jones WT, Moser SA. A data mining system for infection control surveillance. Methods Inf Med, 2000; 39: 303-10.

9．Palumbi SR. Humans as the world's greatest evolutionary force. Science, 2001; 293: 1786-90.

10. Montesinos I, Salido E, Delgado T, Cuervo M, Sierra A. Epidemiologic genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis at a university hospital and comparison with antibiotyping and protein A and coagulase gene polymorphisms. J Clin Microbiol, 2002; 40: 2119-25.

11. Poupard J, Brown J, Gagnon R, Stanhope MJ, Stewart C. Methods for data mining from large multinational surveillance studies. Antimicrob Agents Chemother, 2002; 46: 2409-19.

12. 藤本修平，池　康嘉，酒巻哲夫，森下靖雄，村上啓雄 他．国立大学医学部附属病院共通ソフト「感染症管理システム」の開発（Universal Infection Control Computer System for National University Hospitals.）．医療情報学　2002；22：546-547.

13. 藤本修平．耐性菌サーベイランスの目指すところ．INFECTION CONTROL 2004 2004；13-10：1024-1030.

14. Fishman N. Antimicrobial stewardship. Am J Med, 2006; 119: S53-61; discussion S62-70.

15. 藤本修平，富田治芳，池　康嘉．（特集病院感染対策にかかわるサーベイランス）「サーベイランスの電子化」．Medical Technology 2007；Vol.35　No.５（2007・５）：449-455.

16. 里村秀行，尾高郁子．当センターにおける耐性菌の動向と特定抗菌薬使用届の運用体制の確立．第19回日本臨床微生物学会総会抄録集 2007；17：122.

17. Deplano A, Denis O, Nonhoff C, Rost F, Byl B, Jacobs F, Vankerckhoven V, Goossens H, Struelens MJ. Outbreak of hospital-adapted clonal complex-17 vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* strain in a haematology unit: role of rapid typing for early control. J Antimicrob Chemother, 2007; 60: 849-54.

18. 藤本修平．院内感染を防ぐ細菌院内拡散自動検出法．Medical Technology 2008；36：682-683.

19. Martinez JL. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. Science, 2008; 321: 365-7.

20. Pakyz AL, Oinonen M, Polk RE. Relationship of carbapenem restriction in 22 university teaching hospitals to carbapenem use and carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa.* Antimicrob Agents Chemother, 2009; 53: 1983-6.

21. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care; First Global Patient Safety Challenge Clean Care is Safer Care. WHO, 2009;

22. 八束眞一，高橋正樹，阿久澤まさ子，藤本修平.【感染管理に役立つ基礎知識　今すぐできる検査室の貢

献】外注検査を感染対策に効率的に取り入れる方法 Medical Technology（0389-1887），2009；37：362-366.
23. 日本の病原体サーベイランスシステムとIASR. IASR 2010；31：69-72.
24. Broschat SL, Call DR, Davis MA, Meng D, Lockwood S, Ahmed R, Besser TE. Improved identification of epidemiologically related strains of Salmonella enterica by use of a fusion algorithm based on pulsed-field gel electrophoresis and multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis. J Clin Microbiol, 2010; 48: 4072-82.
25. 藤本修平. 細菌学者の院内感染対策、サーベイランスへの寄与. 感染制御　2010；６：550-554.
26. Gould CV, Umscheid CA, Agarwal RK, Kuntz G, Pegues DA. Guideline for prevention of catheter-associated urinary tract infections 2009. Infect Control Hosp Epidemiol, 2010; 31: 319-26.
27. 藤本修平. 人獣共通細菌データベースの必要性. 動物抗菌会報　2010；32：12-24.
28. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業―JANIS. IASR 2011；32：１-２.
29. O'Grady NP, Alexander M, Burns LA, Dellinger EP, Garland J, Heard SO, Lipsett PA, Masur H, Mermel LA, Pearson ML, Raad II, Randolph AG, Rupp ME, Saint S. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Am J Infect Control, 2011; 39: S1-34.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-first informational supplement. M100-S21:Clinical and Laboratory Standards Institute
31. 藤本修平.「antibiogramの自動分類と二次元キャリアマップ（2DCM)」による院内感染対策. IASR 2011；32：９-10.
32. Srinivasan A, Fishman N. Antimicrobial stewardship 2012: science driving practice. Infect Control Hosp Epidemiol, 2012; 33: 319-21.
33. McGowan JE. Antimicrobial stewardship--the state of the art in 2011: focus on outcome and methods. Infect Control Hosp Epidemiol, 2012; 33: 331-7.
34. 藤本修平.「厚労省JANIS事業の安定運用と改善及び院内感染対策の高精度化を目的とした電子システムの研究」. 平成23年度厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）「新型薬剤耐性菌等に関する研究」（H21-新興-一般-008）分担研究報告書　2012

耐性菌時代の院内感染制御

―感染対策の地域連携支援システム(RICSS)開発とその先にあるもの―

東海大学医学部基礎医学系生体防御学

藤　本　修　平

■内容

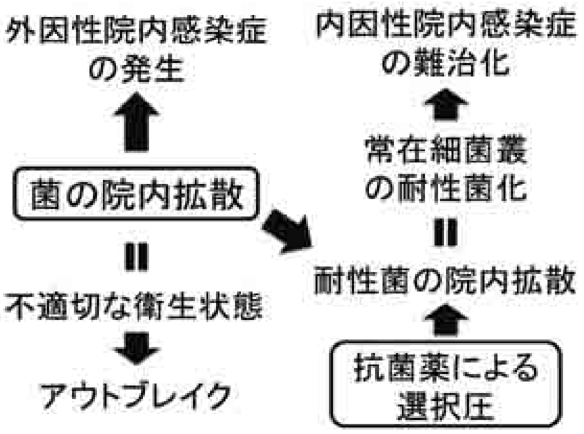
１．耐性菌時代の院内感染症制御（対策）…… 185
２．感染対策の地域連携支援システム(Regional Infection Control Support System: RICSS) …… 188
ａ．RICSSの概要 …… 188
ｂ．RICSS開発の経緯 …… 188
ｃ．RICSSが集める情報とJANIS、JACSとの連携 …… 189
ｄ．RICSSのグループ機能 …… 190
ｅ．RICSSの付加機能 …… 191
ｆ．RICSSの概要設計 …… 191
ｇ．RICSS開発のタイムライン …… 192
ｈ．開発終了後のRICSS - "beyond RICSS" …… 193
ｉ．まとめ …… 194
文　献 …… 194

１．耐性菌時代の院内感染症制御（対策）

耐性菌の問題は、日本国内だけ、ヒトだけの問題でなく、全世界、ヒト、動物環境を含む、全地球環境の問題になっている(1-5)。WHOは耐性菌を2011年の世界保健デーのテーマとした(6)。さらに、WHOは2015年Global Action Plan for Antimicrobial Resistance(7)を発表した。日本国政府も2016年、薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン(8)を発表した。この中で、耐性菌対策として、①普及啓発・教育、②動向調査・監視、③感染予防・管理 、④抗微生物剤の適正使用、⑤研究開発・創薬、⑥国際協力が対策として挙げられている。医療施設での感染制御に直接関わる部分として②の動向調査・監視、③の感染予防・管理、④の抗微生物薬の適正使用が挙げられている。これは、「耐性菌時代」の院内感染制御では、菌の院内拡散と抗菌薬による選択圧の制御が、感染対策の要となること(9)、これらの制御を適切に行うために、現状を正確に把握する科学的データが必要であることによる。

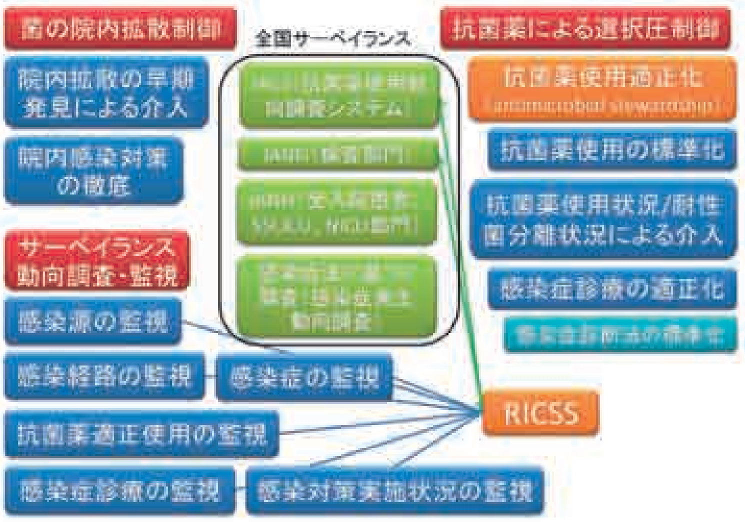
菌の院内拡散は、外因性院内感染症の最初のステップであり、耐性菌の院内拡散においても必須のステップである（図１）。さらに、耐性菌の院内拡散によって、入院後に常在細菌叢に耐性

菌が侵入することにより内因性院内感染症の難治化を引きおこす。さらに、菌の院内拡散の多発自体がアウトブレイクの危険因子である。抗菌薬による選択圧が耐性菌に与える影響と菌が耐性であることによって払う犠牲の関係については議論があるが[10]、抗菌薬が常在細菌叢において耐性菌の選択を行うことは菌交代現象において明らかで[11,12]、社会的な選択にも根拠が示されている[13]。



（図１）耐性菌時代の院内感染症と菌の院内拡散、耐性菌による選択圧（文献(9)より引用）
菌の院内拡散は外因性院内感染症の最初のステップであり、耐性菌の院内拡散においても必須のステップである。さらに、内因性院内感染症難治化の原因、アウトブレイクの危険因子でもある。抗菌薬による選択圧と耐性のコストについては議論があるが、観察事実として抗菌薬による耐性菌の選択は存在する。

菌の院内拡散制御は、主に、院内感染対策、感染予防策の徹底と院内感染あるいは菌の院内拡散の早期発見による介入として行われる（図２）。抗菌薬による選択圧制御は、近年、antimicrobial stewardship として行われている[14,15]。抗菌薬使用法の標準化のためにガイドラインの整備、施設ごとの耐性菌分離状況を反映した初期治療、適切な細菌検査の実施とそれに基づく抗菌薬による治療の適正化が行われている。施設ごとの抗菌薬使用状況、耐性菌分離状況の把握は、偏った抗菌薬選択の是正にも用いられる。抗菌薬使用の適正化には感染症診療の適正化が不可欠であるため、細菌培養の適正化など感染症診断の適正化もこの中で行われている。



（図２）耐性菌時代の院内感染制御と全国サーベイランス、RICSS
耐性菌時代の感染制御（対策）は、菌の院内拡散制御、抗菌薬による選択圧制御とそれらを科学的に行うための科学的データを与えるサーベイランス（動向調査・監視）が必要である。現在、すでに、複数の全国サーベイランスが存在する。RICSS はこれらと連携し、さらに新たな情報の収集、集計、還元を行うと共に全体を有機的に結び付ける役割を果たす。

サーベイランス（動向調査・監視（モニタリング））は、感染源の監視、感染経路の監視、感染症の監視、抗菌薬適正使用の監視、感染症診療の監視、感染対策実施状況の監視が必要となる。感染源の監視は分離菌などの病原体サーベイランスで、感染経路の監視は、環境培養などのモニタリング、感染経路別の感染症患者数などで監視される。感染症は、感染症診断、症候サーベイランスなどによって監視される。抗菌薬の使用状況は、個々の症例の用法用量によって、また、施設全体としての抗菌薬の適正使用は、抗菌薬使用状況の監視、耐性菌率などによって監視される。さらに細菌培養などの感染症診断法、感染症治療の状況も抗菌薬の適正使用の監視として重要である。

「院内感染対策」「感染予防策」として実施されている制御（対策）の有効性は、アウトブレイクの有無、耐性菌の分離状況などで判断されており、実施状況（対策の徹底状況）は院内巡視、手掌消毒薬の消費量、あるいは、実際にアウトカムが得られているか、前述の制御の有効性によって監視されることが多い。

現行の国レベルでのサーベイランスシステムでは、JANIS 検査部門が感染源での病原体分離状況を、厚生労働省院内感染対策サーベイランス全入院患者部門、SSI 部門、ICU 部門、NICU 部門が感染症の監視を、感染症発生動向調査は、感染症、問題となる病原体についての監視を主に行っている。感染経路の監視は院内で拭き取り調査などとして行われ、感染対策の実施状況の監視は、現在は院内、地域連携での監視に頼っている。感染症診療の監視は、院内での感染症コンサルテーションの中で、あるいは、地域連携での血液培養の推奨、実施率の監視などとして行われている。

抗菌薬の開発が活発であった前世紀の後半、細菌感染症の問題は抗菌薬によって解決したかのように考える風潮があったが、耐性菌による院内感染症は、先進医療がもたらした新興感染症であり、さらに、様々な社会的環境から抗菌薬の開発が行われなくなるにしたがって、耐性菌感染は先進医療の安全な実施を脅かすようになった[16,17]。今日の耐性菌に対してしっかりとした対応をとろうという社会的、行政的な動きはこれに呼応した重要なものである。

院内感染症の問題は、広く認識されるようになっているが、院内感染症についての知識、院内感染症に対する認識には、個人差、施設差、あるいは地域差が存在し、施設においてはさらに、体制、設備の違いも存在する。これらを適正化するために、JANIS などの全国サーベイランスや地域連携の試みが行われてきた。平成24年３月には、「感染防止対策地域連携加算」が行われるようになり、平成26年度の診療報酬改訂時には、加算１の施設は要件として、JANIS に相当する全国サーベイランスへ参加することがあげられた。現在は、感染防止対策加算および地域連携加算として継続されており、一定の成果をあげている。一方、地域連携では、感染対策の体制、感染症の発生状況、感染防止策の実施状況、抗菌薬適正使用の状況、感染症診療の適正化に関する情報などを、収集、相互評価することが求められるため、その収集、集計、還元に必要な事務的作業の負担は、特に、感染防止対策加算１の施設において大きくなっている。

筆者らは、平成25年より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「医療機関における感染制御に関する研究」研究班（H25八木班）において、「感染対策地域連携に活用できるソフトウエアの開発に関する研究」を行い、その中で、『感染対策の地域連携支援システム（Regional Infection Control Support System: RICSS)』構想の提案、概要設計、費用積算を行った。本年度（平成28年度）AMED（日本医療研究開発機構）のプロジェクトとして開発を行うことになった。

RICSS は、JANIS、JACS（抗菌薬使用動向調査システム、Japan Antimicrobial Consumption Surveillance）[18] と連携しながら、感染対策実施状況、感染源、感染経路、感染症、抗菌薬適正使用、感染症診療を総合的に監視する。感染対策の実施状況とそのアウトカムに関するデータの収集、集計、還元を行うシステムで、現行の国レベルのシステム、施設レベルの体制を有機的に結び付け、ひとつの核となるシステムである。

２．感染対策の地域連携支援システム（Regional Infection Control Support System: RICSS）

ａ．RICSS の概要

RICSS は、全国の医療機関を１つのシステム（サーバー）でカバーするシステムである。主なインターフェイスに Internet Explorer® などの Web ブラウザーを用いる。データ入力は、手入力、JANIS、JACS のデータ利用による。データ入力は、加算１、２それぞれの施設で行う。データ入力頻度は、月１回が原則であるが、病院属性などについては、～１回 / 年としている。集計データは、データ入力時に、その時点での暫定集計データが還元される。集計データとしては、他施設との比較、経時変化を基本とし、平成28年度開発版では試みとして統計的に異常な菌の分離を自動的に検出する仕組み（Probability-based Microbial Alert: PMA）の軽量版などを実装する予定である。

RICSS は、グループ機能に特徴がある。それぞれの医療施設は、最初に、診療報酬加算に基づく連携などの「基本グループ」に登録を行うが、いったん、基本グループに登録してしまえば、その後は、自由意志でグループを作り、それに所属することができる。さらに、複数のグループに属することも自由である。これによって、診療報酬加算に基づく地域連携とは無関係の、たとえば、特定の機能を持つ施設どうし、あるいは、研究会の仲間、県など広域の医療機関との比較が可能となる。将来的には、このグループ機能を用いて、JANIS や JACS のデータを比較検討することも、標的に開発を進めている。

ｂ．RICSS 開発の経緯

RICSS は、当初、地域での連携を支援するために、一地域で用いるシステムとして、検討を行った。岐阜県における地域連携をモデルとして調査した。県レベルでの連携が成果を挙げていることに注目し、県レベルでの連携も行えるシステムの仕様を検討し、システム構築費の概算を求めた。感染防止対策加算１の施設と２の施設の１-２連携、１の施設同士の１-１連携に加えて、県のレベルを集計、還元に加えることになった。データの入力、集計、還元情報の作成を行う方法は、１-２連携、１-１連携、県レベルの連携でも大きな違いはないことが分かった。一方、施設情報の管理、データの管理などについては、工夫が必要であることが分かったが、適当な施設情報の管理、データ管理の仕組みを持てば、全国レベルでの処理も可能なシステムを構築できること、さらに、開発の費用は地方レベルまでと大きな違いがないことが分かった。

全国レベルでのデータ集計が可能になれば、新たなサーベイランスシステムとして機能しうること、感染対策の標準化、地域差の縮小にも役立つ可能性があること、さらに、当初からの目的である連携支援については、全国の施設で行われている地域連携のための事務的作業を一挙に省力化し、その労力を、他の作業に向けることを可能にすると考え、これを、「感染対策の地域連携支援システム（RICSS）（仮称：当時）」として提案した。

八木班において、収集、還元するデータについて、北海道大学、名古屋大学、岐阜大学、金沢医科大学、三重大学から意見を収集、討議した。これを元に、平成26年に、岐阜大学の協力で、岐阜で用いている Microsoft Excel® を用いた手作業によるシステムを利用して、これらの５大学を感染防止対策加算１施設とする地域連携でデータ収集、還元の試行を行った。様々な特性の異なる施設が参加するため、すべての施設がすべてのデータを提出することは困難であることが分かった。一方で、収集しているデータの種類を見て、感染対策として何を行ったら良いのか理

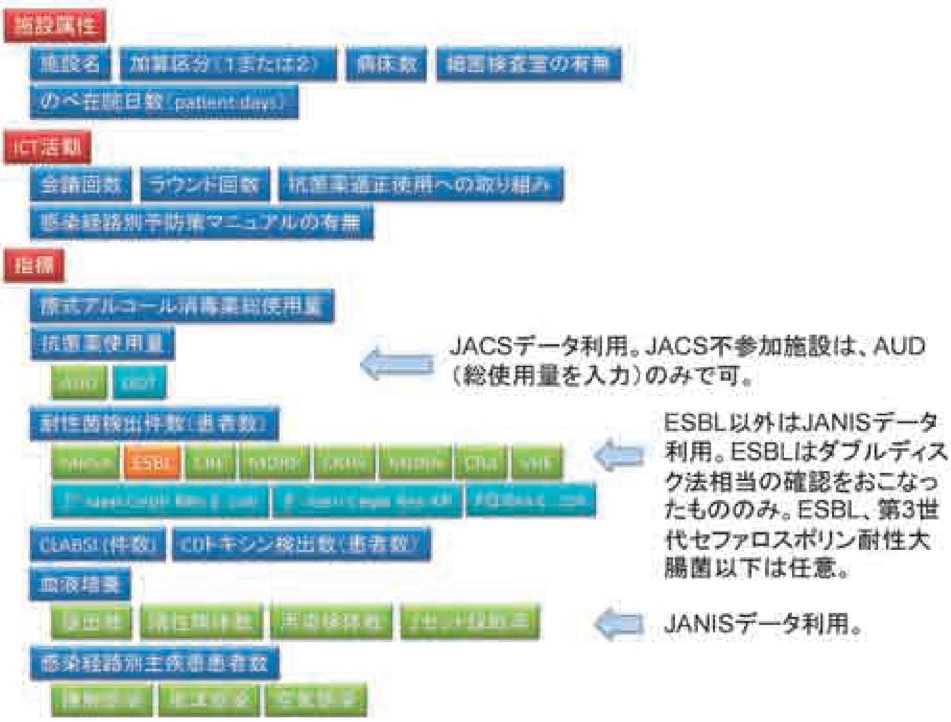
解できたという意見もあり、標準化したデータ収集が、感染対策そのものの標準化に結びつく可能性があると考えた。

加算２であった施設が加算１に変わる、あるいは、その逆のことも可能性としてはあり、加算１、２、地方、全国という階層で各施設のデータを持つと、変更に手間がかかる可能性が明らかになった。データに階層を持たせず、階層は、台帳データとして管理する方法でこの問題は解決できると考えた。さらに、台帳データ自体を階層化しないことによって、自由に複数グループに所属することができる仕組みを考えた。この方法は、柔軟性が高いが、一方で、誰でも参加できる構造となるため、データの信頼性や、システムの保全に問題があることが指摘され、すべての施設が「基本グループ」に入ることを条件に加えることにした。

最終的なシステムの提案が、AMR 対策アクションプラン (8) に盛り込まれ、「平成28年度第１回医療分野の研究開発関連の調整費」として AMED より開発費が配分された。28年度末までに、開発、初期試行、試行、問題点の改修を行う予定である。

ｃ．RICSS が集める情報と JANIS、JACS との連携

RICSSは、感染対策（感染制御）の実施状況とそのアウトカムに関する情報を集める。比較、調整のために必要な施設属性、antimicrobial stewardship を含む ICT 活動の体制、実施状況、感染症診療の状況を含めた指標を収集する（図３）。すべての項目を Web ブラウザーの画面から手入力することができるが、JANIS、JACS のデータを利用することで、抗菌薬使用量、ESBL を除く耐性菌検出数（患者数）、血液培養に関する項目の入力を省くことができる。平成28年度版では、新たに開発する JACS の CSV 還元情報と既に実装されている JANIS の CSV 還元情報を



（図３）RICSS が集める情報

感染対策の実施状況とそのアウトカムとなる情報、指標を収集する。すべての項目を手入力することも可能であるが、JACS、JANIS 参加施設はそのデータを入力に用いることができる。3rd Gen Ceph Res *E.coli*; 第３世代セファロスポリン耐性大腸菌、3rd Gen Ceph Res KP；第３世代セファロスポリン耐性肺炎桿菌、FQ Res *E.coli*；フルオロキノロン耐性大腸菌

利用するが、将来的には、それぞれのサーバーから自動的にデータを利用することを考えている。

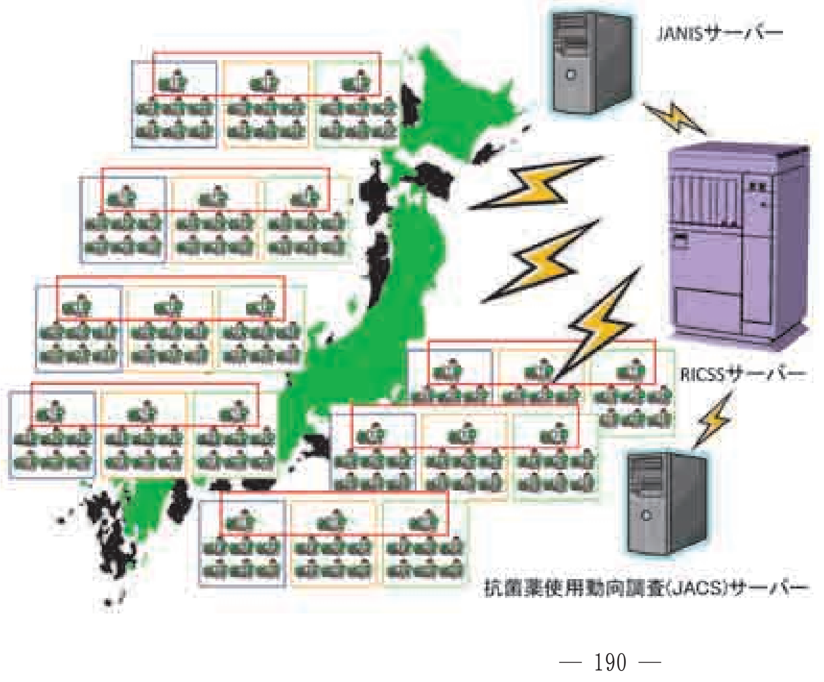
これらのデータ項目は、平成24年に連携に関する加算にともなって行われた通知中の項目[19]、岐阜大学を中心とした岐阜県の連携で取り上げられていた項目に八木班での検討を加えて決定した。AMR 対策アクションプランの策定に伴い、今後、新たに医療機関等における耐性菌対策の方法について具体的指標が示された場合は、それらに合わせて入力項目を柔軟に変更することができる仕組みを要件としている。さらに、これらの項目を、基本項目、発展課題項目のようにクラス分けすることも考えている。

擦式アルコール消毒薬総使用量は、総使用量と商品名を入力し、当該商品の一回使用相当量から使用回数を算出する。これによって商品による違いをある程度吸収できると考えている。耐性菌検出数（患者数）のうち ESBL はダブルディスク法などで確認したもののみを登録するが、実施している施設のみ登録すれば良いことにした。また、すべての検体に対して実施しているわけではないので、実施した数（母数）と陽性数（分子）の両方を集める。第３世代セファロスポリン耐性大腸菌、第３世代セファロスポリン耐性肺炎桿菌、フルオロキノロン耐性大腸菌は JANIS データから抽出できるが、JANIS に参加しておらず、これらの菌の集計を行ってない場合は、登録しなくて良いことにした（実施していないことを登録する)。CD トキシンもすべての検体を対象に調べているわけではないので、分母と分子の両方を集めることにした。

d．RICSS のグループ機能

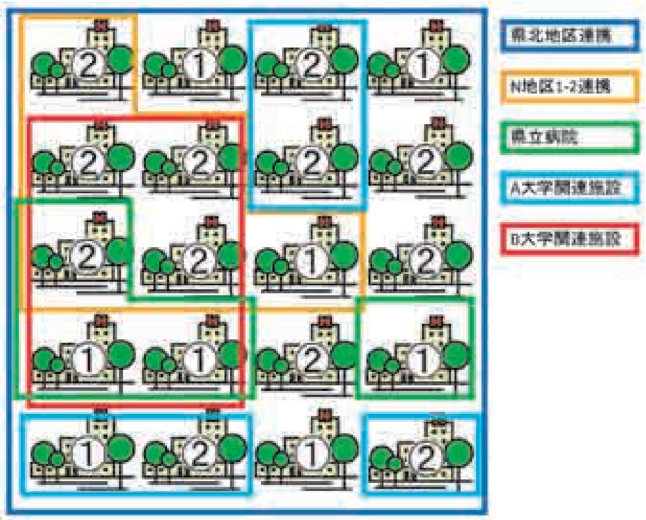
RICSSは、当初、一地方での連携を、後に、県単位まで、国単位までの連携支援を１台のサーバーで実施するシステムとして提案した。グループを階層構造によって管理するのではなく、それぞれを含むグループを定義することで管理する方法をとった、したがって、グループ定義の仕方で、現存の一定の階層構造を行政区分などと組み合わせて利用すること（図４）も、それらの構造とは無関係に、地理的に離れた場所にある施設であっても、それぞれの地域での連携とは直接関係のないグループで同時に連携を行うことができる（図５)。

それぞれの地域で地域連携を行っている施設が、たとえば、国立病院機構の病院として、特定大学の附（付）属病院などのグループ病院として、さらには勉強会をしている仲間のいる病院同



（図４）感染対策の地域連携支援システム（Regional Infection Control Support System; RICSS）

RICSS は全国の施設を１台のサーバーで支援する。各地方の感染防止対策加算１-２，１-１連携、それらを県レベルでまとめたグループ、全国（全体）のグループを含む様々なグループ（図５参照）で情報の収集、還元を行う。



（図５）階層構造をとらないグループ機能
一旦、感染防止対策加算に基づく基本グループに登録すれば、自由に様々なグループに所属することが出来る。目的外の利用を防ぐため、グループ（管理者）の登録は必要とするが、登録以降は管理者とそれぞれの施設が承認すれば自由にグループを作れるようにする予定である。グループの登録管理などについては、まだ議論が残っている。

士など様々な複数のグループの一員となることができる。これらは、それぞれの施設が、最初に「基本グループ」に属することが原則で、加算の対象となっている連携を「基本グループ」として登録することになる。基本グループに登録する際には、国レベルでの全体集計にデータを利用することを承認することが原則となるが、チェックボックスなどによって確認をとる予定である。

基本グループ以外のグループは、申し出によってグループ管理者を登録し、グループ管理者とそれぞれの施設が承認するかたちで自由に登録ができるようにする予定であるが、登録管理などの実務については、まだ議論がある。２年度開発版では研究班での試行となるため、研究班でグループを管理する。

ｅ．RICSS の付加機能

28年度開発版では、菌の分離が統計的に有意に増加した時に警告を発する「菌の異常集積の自動検出」（Probability-based Microbial Alert: PMA）[16] を軽量化した [9] PMA light version (PMAL) とそれを用い、すべての菌種について、数年分の菌の分離状況を統計的に異常のある分離の起こっている頻度のヒートマップとして表現するΣ -alert matrix 軽量版を実装し、施設間の菌の分離状況の把握を支援する。

ｆ．RICSS の概要設計

八木班においてRICSS の概要設計を行っており、平成28年度開発はこれを骨子として開発を行う。

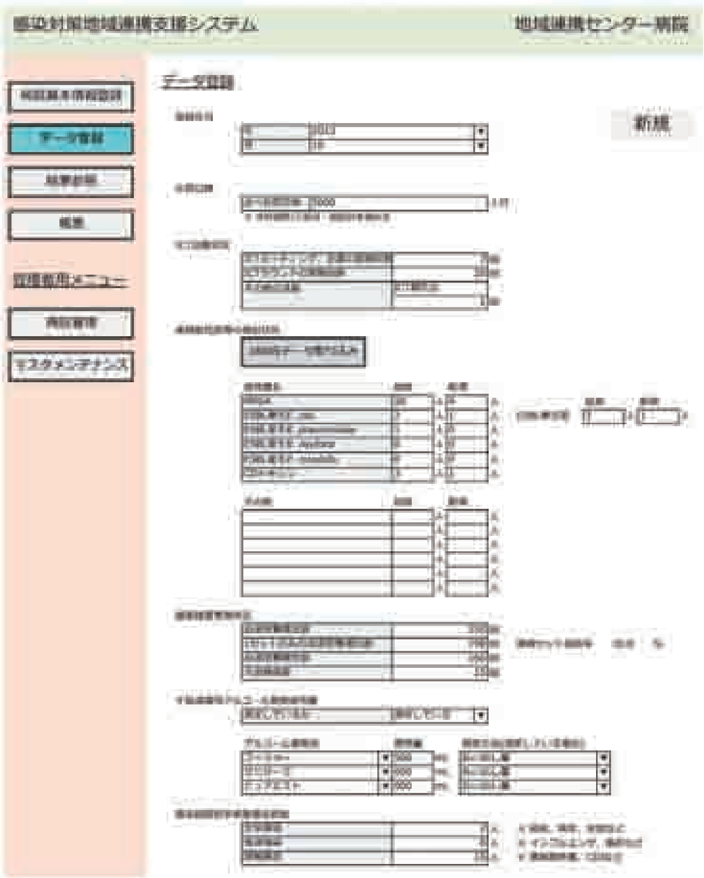
RICSS は１台のサーバーで全国の加算１、２の施設の連携、さらに、それらが自由に作るグループの連携を支援する。登録などに、管理者が必要となるが、サーバーはWeb サーバーとして機能し、登録作業を含めて、すべての作業は、Web ブラウザー、あるいは

（図６）八木班での概要設計によるRICSS の病院基本情報管理画面
病院の登録もWeb 画面で行う。病院登録には管理者の承認が必要である。

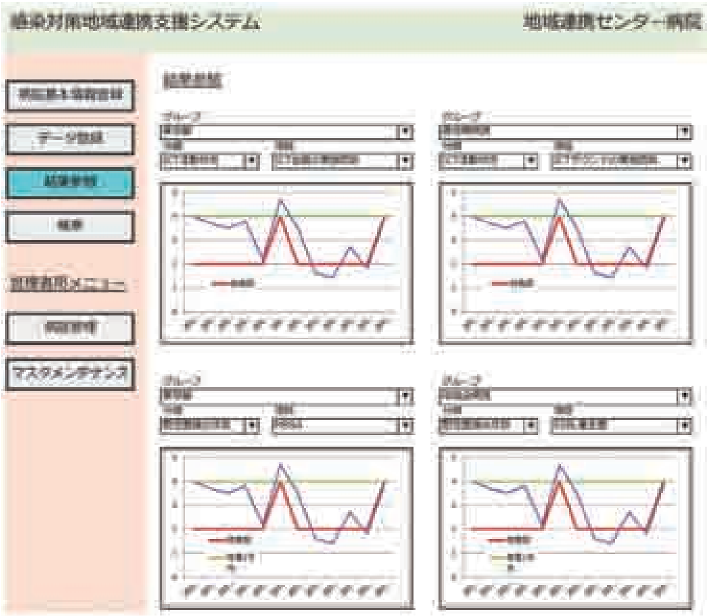
それから起動されるWebアプリケーションによって実現する（図6-8）。

将来そのまま政府共通プラットフォームへ移行できるように、データベースを含めて、現在の共通プラットフォームの仕様に沿って構築する。

データ入力時に、暫定集計としてリアルタイムでWebブラウザーを介して情報還元を行う。28年度開発では、任意の集計項目を組み合わせて1画面を構成し、その組み合わせを保存できる仕組みでデータ還元を行う（図8）。将来的に、グループ機能を活かして、後述するようなJANISデータを含む感染対策、AMR対策に関する、全国、自グループ、自施設のデータ、あるいは、国民が利用できる情報を、直感的に分かりやすく把握できる、より視覚的な様式で還元できる仕組みを考えている。



（図7）八木班での概要設計によるデータ登録画面の一部
JACS、JANISからのデータ取り込みもWeb画面で行う。



（図8）八木班での概要設計による還元情報（結果表示）画面
　データ入力と同時に、暫定集計（その時点までの入力に基づく集計結果）が表示される。任意の項目を並べて表示できる。表示の組み合わせを保存できる。

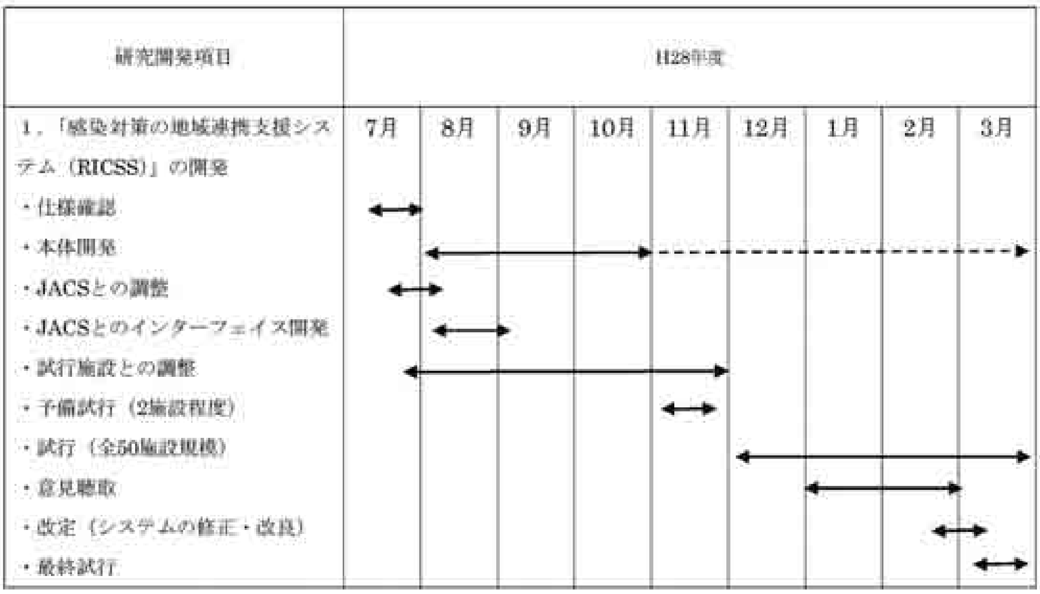
g．RICSS開発のタイムライン

平成28年度開発は、7月中に、仕様確認、詳細仕様の決定、8月～10月本体開発、並行して、JACSとのインターフェイス（CSVファイル）仕様決定、JACS側、RICSS側インターフェイス

開発、動作試験を経て、11月に２施設（加算１）を中心とする試行、12月から全50施設規模の試行を実施、意見聴取の上、２月下旬から改修を行い、３月中下旬に最終試行を行う予定である(図９)。

平成29年度は、八木班（平成28年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業「地域連携に基づいた医療機関等における薬剤耐性菌の感染制御に関する研究」研究班）でより範囲を広げた試行を行い、適当なタイミングで事業化を図りたいと考えている。

開発スケジュール



（図９）「平成28年度開発」開発スケジュール

単年度の調整費によって開発する。平成28年度中に開発、試行、改良、再試行までを行う。平成29年度以降は研究班で試行を行い、適当なタイミングで事業化を図る構想である。

h. 開発終了後の RICSS - "beyond RICSS"

感染対策に関するシステムの開発に携わるようになったとき、「洗練された」(civilized) システムとは、日常の業務の中で、適正な対策に向かうような情報が知らず知らずにフィードされ、フィードバックされ、無意識に良いプラクティスに向かえるようなシステムではないかと考えた。RICSS において標準的な指標を収集することは、それらの指標が感染対策において重要であることを示唆する情報となる。還元情報で、焦点を絞った情報について経時変化、他施設、全国との比較を行うことも、最低限の要求の達成を促すことになる。

データの還元様式については、将来的には、英国の Public Health Profiles の AMR local indicators [20] や米国 CDC の Antibiotic Resistance Patient Safety Atlas [21] のような AMR 対策の視点から、RICSS のグループ機能を活用しながら、視覚的に見やすく、対策の戦略決定に利用できる、いわば、「感染対策作戦本部画面（Infection Control Command Center View）機能」を持たせることができると考えている。RICSS には、他にはないグループ作成機能があるため、特性グループごとの集計をそれらの様式で提供することができる。内容的に非常に多様な切り口の情報を示すことができるようになると考えている。

ｉ．ま と め

感染対策の地域連携支援システム（Regional Infection Control Support System: RICSS）は、

①　厚労科研八木班（H25～）において、感染防止対策加算および地域連携加算に基づく感染対策の地域連携に伴う、データ収集、集計、還元の作業負担を軽減するシステムの調査・研究・開発を行った。 ②　加算１-２、１-１連携に止まらず、全国レベルまでの任意のグループに対して、感染対策の実施状況とそのアウトカムに関する情報を、収集し、それぞれのグループの評価に利用できる形で、集計、還元するシステムとして提案した。 ③　感染対策の実施状況とそのアウトカムに関する情報の収集、集計、還元を行う。 ④　JANIS 検査部門、JACS（抗菌薬使用動向調査システム）と連携する。 ⑤　AMR 対策アクションプランの一部になっている。 ⑥　平成28年度、AMED の資金で単年度で開発を行うことになった。 ⑦　将来的に、グループ機能を活かし、様々な特性を持った施設についての、感染対策、AMR 対策の実施状況と、耐性菌の分離状況などのアウトカムをより直感的に、一般市民を含むより多くの人に還元するシステムとする次の構想を描いている。

文　献

１．Martinez, J. L. "Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments.", (2008) *Science*, 321, 365-7.

２．Forsberg, K. J., Reyes, A., Wang, B., Selleck, E. M., Sommer, M. O., and Dantas, G. "The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens.", (2012) *Science*, 337, 1107-11.

３．Hede, K. "Antibiotic resistance: An infectious arms race.", (2014) *Nature*, 509, S2-3.

４．McKenna, M. "Antibiotic resistance: the last resort.", (2013) *Nature*, 499, 394-6.

５．Howard, S. J., Catchpole, M., Watson, J., and Davies, S. C. "Antibiotic resistance: global response needed.", (2013) *Lancet Infect Dis*, 13, 1001-3.

６．WHO "WHO urges countries to take measures to combat antimicrobial resistance. Be alert to antimicrobial resistance", (2010) *http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2010/amr_20100820/en/index.html*,

７．WHO "Global Action Plan for antimicrobial resistance.", (2015) *http://www.who.int/drugresistance/global_action_plan/en/*,

８．日本国政府（国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議）" 薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン ", (2016 *http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000120172.html*,

９．藤本修平，感染対策サーベイランスにおける新しい取り組み―耐性菌時代の院内感染対策と2DCM-web―，（2014）化学療法の領域，30：224(1108)-238(1122).

10．Andersson, D. I., and Hughes, D. "Persistence of antibiotic resistance in bacterial populations.", (2011) *FEMS Microbiol Rev*, 35, 901-11.

11．Lacey, R. W., Lord, V. L., Howson, G. L., Luxton, D. E., and Trotter, I. S. "Double-blind study to compare the selection of antibiotic resistance by amoxycillin or cephradine in the commensal flora.", (1983) *Lancet*, 2, 529-32.

12．Stevens, V., Dumyati, G., Fine, L. S., Fisher, S. G., and van Wijngaarden, E. "Cumulative antibiotic exposures over time and the risk of Clostridium difficile infection.", (2011) *Clin Infect Dis*, 53, 42-8.

13．Goossens, H., Ferech, M., Vander, Stichele. R., and Elseviers, M. "Outpatient antibiotic use in Europe

and association with resistance: a cross-national database study.", (2005) *Lancet*, 365, 579-87.

14. Shlaes, D. M., Gerding, D. N., John, J. F., Jr, Craig, W. A., Bornstein, D. L., Duncan, R. A., Eckman, M. R., Farrer, W. E., Greene, W. H., Lorian, V., Levy, S., McGowan, J. E., Jr, Paul, S. M., Ruskin, J., Tenover, F. C., and Watanakunakorn, C. "Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals.", (1997) *Clin Infect Dis*, 25, 584-99.
15. Fishman, N. "Antimicrobial stewardship.", (2006) *Am J Med*, 119, S53-61; discussion S62-70.
16. 藤本修平　院内感染症制御のための監視システム，（2012）平成24年度群馬大学文部科学省特別プロジェクト事業「多剤薬剤耐性菌制御のための薬剤耐性菌研究者育成と細菌学的専門教育」第１回薬剤耐性菌制御のための教育セミナー資料， pp.41-58.
17. 藤本修平，耐性菌と戦う臨床細菌検査の有効活用法—電子化による感染対策の高精度化—，（2015）日本臨床微生物学会雑誌，25(1): 1-9.
18. "抗菌薬使用動向調査システム（JAPAN Antimicrobial Consumption Surveillance; JACS）", *http://www.jacs.asia/*,
19. 厚生労働省（平成24年度診療報酬改定について http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/iryouhoken/iryouhoken15/index.html）"感染防止対策地域連携加算チェック項目表", （2012）*http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/iryouhoken/iryouhoken15/dl/5-2-2-7.pdf*,
20. Public Health Profiles (英国政府) "AMR local indicators ", *http://fingertips.phe.org.uk/profile/amr-local-indicators*,
21. CDC (米国) "Antibiotic Resistance Patient Safety Atlas", *http://gis.cdc.gov/grasp/PSA/index.html*,

エビデンスに基づいた薬剤耐性菌対策とその実例

名古屋大学大学院医学系研究科
臨床感染統御学

八　木　哲　也

■内容

はじめに …… 196
薬剤耐性菌対策を考える上でのポイント …… 197
　1）薬剤耐性菌の定義 …… 197
　2）耐性菌の検出頻度 …… 198
　3）菌の臨床微生物学的特徴 …… 198
　4）対策を行う状況や環境 …… 199
CRE 感染対策の考え方 …… 200
　1）CRE の検出 …… 200
　2）アウトブレイク時の対策 …… 200
名大病院での CRE 対策の実際 …… 202
おわりに …… 205
参考文献 …… 205

はじめに

筆者の頭の中では、「感染制御」という言葉の定義は、「感染対策＋感染症診療」、すなわち感染対策と感染症診療（支援）の両方の意味を含んだものになっている。米国では、この二つの機能は十分に分離していて、いわゆる日本でいう「感染制御部」は感染対策を、「感染症科」は感染症診療を行うようになっていて、最近では、感染症医と薬剤師が中心となった「Antimicrobial Stewardship Team」が活動している。もちろん「感染症科」のカバーする領域は広範にわたるので、日本でもこうした分化が進めば良いのだけれども、日本の医療が置かれた状況の中で限られた医療資源をどのように分配していくかを考えた時に、こうしたいくつもの感染制御に関係する組織をどのようにマネジメントしていくのが一番いいのかはよく分からないところである。その中で「感染対策」の部分は、現場での対策の徹底を行う感染管理認定看護師（CNIC）が中心となって実践するので、Infection control doctor（ICD）にとっては最もなじみにくい部分ではあるのだが、施設の中で、「感染制御」活動を全体として、どのようにデザインしていくか、マネジメントしていくかは、やはり ICD の重要な仕事であるように思われる。

大きな話になってしまったので、少し範囲を狭めて薬剤耐性菌対策について考えてみたいと

思う。薬剤耐性菌対策の要諦は、言ってみれば接触感染対策に尽きる。患者を個室管理またはコホート管理にして、患者ケアを行う時には、手指衛生、個人防護具の着用を厳密に行い、物品の共用を避ける……。教科書的にはそうしたことになるが、どのような菌が検出された時に、どのように対策を適用していくかは、施設のICTの責任者のポリシーによると思われる。本稿では、近年注目されているカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（Carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*: CRE）を含めた薬剤耐性菌対策の考え方について述べてみたいと思う。

薬剤耐性菌対策を考える上でのポイント

薬剤耐性菌対策を行う上で、重要なポイントについて考えてみよう。

1）薬剤耐性菌の定義

まず最初のポイントは、「どういった薬剤耐性菌を対策対象にするか？」ということである。例えばESBL産生菌は対策をとるが、AmpC型β-ラクタマーゼを過剰産生して耐性となっている *Enterobacter cloacae* を対策対象にするかどうか？　また薬剤耐性菌の耐性の度合いによって、対策をかえるかどうか？　ということである。どのような菌を対策対象とするかを細菌検査室と十分情報共有して、検出されたら迅速に必要な部署に連絡がなされ、対策が開始されるようにしなければならない。

また、菌の耐性の度合いも対策の内容に関わる問題である。日本における「多剤耐性」の定義は、多剤耐性緑膿菌、多剤耐性アシネトバクターの定義にある、

イミペネム（カルバペネム）のMIC≧16μg/ml
アミカシン（アミノグリコシド）のMIC≧32μg/ml
シプロフロキサシン（フルオロキノロン）のMIC≧4μg/ml

が一般的に使用されている。実際、カルバペネム系抗菌薬、アミノグリコシド系抗菌薬、フルオロキノロン系抗菌薬に耐性となると、治療の選択が非常に限られることとなる。欧米の薬剤耐性菌の報告を見ても多剤耐性の定義はあいまいであったが、2011年にMagiorakosらは、明確な再定義を行っている[(1)]。彼らは臨床的に良く遭遇する多剤耐性菌である黄色ブドウ球菌、*Enterococcus* spp.、*Enterobacteriaceae*、緑膿菌、*Acinetobacter* spp.について、それぞれに有効な複数の抗菌薬のカテゴリーを設定して、３つのカテゴリーの少なくとも１つ以上の薬剤に非感受性であればmulti-drug resistant（MDR）、１つか２つのカテゴリーを除く全てのカテゴリーの少なくとも１つ以上の薬剤に非感受性であればextremely-drug resistant（XDR）、全てのカテゴリーの薬剤に非感受性であればpan-drug resistant（PDR）と定義している。（例えば緑膿菌であれば、アミノグリコシド系、カルバペネム、抗緑膿菌セファロスポリン、フルオロキノロン、抗緑膿菌ペニシリン＋β－ラクタマーゼ阻害薬、モノバクタム、ホスホマイシン、ポリミキシンの８つのカテゴリーになる。）MDRからXDR、PDRと進むにつれて、耐性度が増し治療の選択がなくなっていくことになる。感染症の治療がより困難になるのであれば、やはり感染対策はより厳重なものにならざるを得ないであろう。

さらに、耐性菌の耐性機序も考慮に入れる必要があるかもしれない。つまり、薬剤耐性がプラスミドなどの菌間を伝播しうる遺伝因子によっているのか、菌の染色体変異によっているのかも重要な点である。国立感染症研究所から発信されている病原微生物検出情報（IASR）には、菌種を越えてカルバペネマーゼ遺伝子の乗ったプラスミドが伝播して引き起こされた、複数菌種の

CRE によるアウトブレイクが報告されている[2,3]。カルバペネマーゼ遺伝子を含んだプラスミドを持った菌は、自身の水平伝播以外にも、菌種を越えたプラスミドの伝播による薬剤耐性の拡散のリスクがあると考えられる。

２）耐性菌の検出頻度

耐性菌の検出頻度によっても、その対策は変わってくるかもしれない。どの病棟でも比較的普遍的に検出され、市中からの持ち込みも多い MRSA と、まだわが国ではまれにしか見られないような MDRA やバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）などの対策の考え方は異なってしかるべきと考えらえる。前者は、ある一定の頻度の検出を許容しながら被害を最小限に食い止める対策となり、後者は、やはり院内での検出はゼロをめざすことになろう。

３）菌の臨床微生物学的特徴

それぞれの薬剤耐性菌の臨床微生物学的特徴を理解することは、感染対策を考える際に重要である。

まず、MRSA は黄色ブドウ球菌であり、皮膚特に創部や障害のある皮膚や有毛部に、また下半身より上半身に保菌されやすい。菌血症、感染性心内膜炎、皮膚軟部組織感染症、肺炎、関節炎、骨髄炎など様々な感染症を起こす。VRE は腸球菌主に *E. faecium* が問題となることが多く、腸管内に保菌される。一般的に人に対する病原性は低く、immunocompromised host で腹腔内感染症、菌血症、尿路感染症、感染性心内膜炎などを起こす。電子式直腸体温計を介して VRE の伝播が起こった事例が報告されている[4,5]。

グラム陰性菌では、緑膿菌は栄養要求性が低く自然環境中、特に水周りなど湿気を含む環境でバイオフィルムを形成して生存する菌であり、生来いくつかの抗菌薬や消毒薬にも耐性である。ヒトに対しては日和見感染菌であり、デバイスなどの人工物につきやすい。Immunocompromised host では、肺炎、菌血症、創部感染症、デバイス関連感染症を引き起こし、重篤な経過をとる場合がある。患者の病態により抗菌薬選択時には、起炎菌として緑膿菌のカバーを含めるかどうかを十分に考慮して選択する必要がある。緑膿菌では、傷がついた内視鏡や尿量測定器などの機材を介してのアウトブレイクも報告されている[6,7]。アシネトバクターでは、*A. calcoacetics-baumannii* complex のうち MDRA として問題となるのは、主に *A. baumannii* である。*A. baumannii* は、ヒトの皮膚などにも保菌されることもあるが、乾燥にも強いため様々な病院環境を汚染し長期間生存するため、環境汚染部位が水平伝播の原因となる[8]。日和見感染菌として、人工呼吸器関連肺炎や菌血症、創部感染などを引き起こす。感染対策には厳重な環境管理も含めた対策が重要となってくる[9]。腸内細菌科細菌には、大腸菌、*Klebsiella* 属、*Enterobacter* 属、*Citrobacter* 属、*Serratia* 属、*Proteus* 属などが含まれ、文字通り、ヒトの腸管内に保菌される。前記の緑膿菌やアシネトバクターに比べると、市中感染症も含め尿路感染や腹腔内感染症、菌血症など様々な感染症の原因菌となることが多い。病院環境の汚染は患者周囲に限られるようであるが、近年十二指腸鏡を介したアウトブレイクも報告されており注意が必要である[10,11]。

こうした臨床微生物学的知識は、アウトブレイク時などの感染対策を組み立てる上で、重要な基礎知識になりうる。そうした菌がどのような感染症の原因菌になりうるかを頭に入れておくことは、感染症の診断・治療においても役に立つ情報である。

４）対策を行う状況や環境

薬剤耐性菌対策は接触感染対策を実践することにあるが、これは感染症患者だけでなく保菌者にも適用される。患者は個室管理されるのが望ましいが、急性期病院であっても個室の数は限られるので、いつも理想的な接触感染対策が実践できるとは限らない。表１に名古屋大学医学部附属病院（名大病院）での個室管理の必要性基準を示す。

必要性：高	排菌が多量で排菌箇所が覆えない状態 ○広範な皮膚の化膿性びらんを伴う皮膚疾患患者（含む熱傷） ○大量の下痢を伴う患者 ○気管切開または気管内挿管をした肺炎患者
必要性：中	排菌が多量であるが、排菌箇所が覆える状態 ○創感染患者 ○ドレーン挿入を伴う胸膜炎や腹膜炎患者 ○気管切開または気管内挿管を伴わない肺炎患者 ○中心静脈カテーテルが挿入されている菌血症患者 ○尿路カテーテルが挿入されている患者
必要性：低	排菌が少量の状態 ○中心静脈カテーテルが挿入されていない菌血症患者 ○尿路カテーテルが挿入されていない患者 ○鼻腔、咽頭、腸管保菌の患者

表１　名大病院での個室管理の必要性基準

耐性菌検出患者は個室管理が原則であるが、排菌量と周囲への汚染の可能性を加味して、個室管理の必要度を変えている。まして療養型病院や介護施設では人的・物的資源が限られるので、可能となる対策その対象や内容が変わってくることになる。表２に CDC の隔離予防策ガイドラインに示された医療現場別の標準予防策と接触感染対策の考え方を示す[(12)]。急性期病院は原則的に全ての患者に標準予防策を、耐性菌保菌及び感染症患者に接触感染対策を適用するが、長期療養型施設や老人介護施設、在宅ケア環境では、コントロールできない分泌物、褥瘡、排膿創、便失禁、人工瘻孔チューブ・バックに接触する可能性のある場合に接触感染対策を適用することとなっている。排菌の少ない多くの長期療養型施設や老人介護施設の患者では、保菌されている部位を頭に入れつつ、標準予防策がしっかりと適用されていれば必要な感染対策をカバーできるという、シンプルな考え方と言える。

	標準予防策	接触予防策
急性期病院	全ての患者	多剤耐性菌保菌及び感染症患者すべてに適応
長期療養型施設 老人介護施設	比較的健康な入所者	病気の入所者、コントロールできない分泌物、褥瘡、排膿創、便失禁、人工瘻孔チューブ・バックに接触する場合
在宅ケア環境	全ての患者	コントロールできない分泌物、褥瘡、排膿創、便失禁、人工瘻孔チューブ・バックに接触する場合

表２　医療現場別の標準予防策と接触予防策の対象

CRE 感染対策の考え方

CRE の蔓延は、腸内細菌科細菌が市中感染症・院内感染症の原因菌として重要な菌であるだけに、社会的・公衆衛生学的にインパクトが大きい。カルバペネムを含む β - ラクタム薬だけでなくアミノグリコシド系抗菌薬やフルオロキノロン系抗菌薬にも耐性を獲得し多剤耐性化すると、感染症患者の治療法が限られることになり、患者予後に対してインパクトも大きい。したがって、CRE に対して適切に感染対策を実施することは非常に重要と考えられる。

1）CRE の検出

CRE 感染対策の第 1 歩は、その早期検出である。腸内細菌科細菌では、カルバペネマーゼを産生していても、イミペネム（IPM）やメロペネム（MEPM）などのカルバペネムに対する MIC が高くならないものもあり、見落とされる危険性がある[13]。米国臨床検査標準委員会（CLSI）や欧州抗菌薬感受性試験委員会（EUCAST）では2010年から腸内細菌科細菌に対するカルバペネム系抗菌薬に対するブレイクポイントを下げて検出感度を上げている。（CLSI: IPM-MIC, MEPM-MIC≤1 μg/ml が感受性、≥4 μg/ml が耐性、EUCAST: IPM-MIC, MEPM-MIC≤2 μg/ml が感受性、≥8 μg/ml が耐性）さらにこの基準で非感受性となった株では、カルバペネマーゼ産生の有無を検出する必要がある。その方法には、modified Hodge 法[14]、Carba NP 法[15]、CIM 法[16]などが報告されている。各種カルバペネマーゼ阻害薬を利用した Disk synersy 法も有用と考えられる。カルバペネマーゼ産生菌の検出には、カルバペネマーゼの種類（Class A or B or D）と特徴、世界での疫学的分布を理解しておく必要がある。米国では KPC 型カルバペネマーゼ産生菌が多く、日本は IMP 型メタロ β - ラクタマーゼが多く、欧州では NDM 型、KPC 型、OXA 型 β - ラクタマーゼ産生菌の報告が混在している。この点については良い総説があるので、ご一読されたい[17]。欧州や中近東などで拡がっている OXA 型のカルバペネマーゼは、阻害薬を用いた検出法や他の方法でも検出が難しく、PCR などによる検出が試みられている[18]。

2）アウトブレイク時の対策

2014年の JANIS の報告によれば、わが国での大腸菌・*K. pneumoniae* でのカルバペネム非感受性率は0.1-0.2％であり、欧米と比べて低い検出率を保っている。CRE のアウトブレイクも散発的にみられるが、アウトブレイク事例の報告は欧米諸国からのものが多く、その大部分は KPC 型カルバペネマーゼ産生 *K. pneumoniae* によるものだが、耐性因子の疫学が異なる我が国での事例にも十分に参考になると考えられる。表 3 に KPC 型カルバペネマーゼ産生 *K. pneumoniae* のアウトブレイク事例での対策を示す。

	入院時スクリーニング（AC）	特定の病棟入室時AC	入院時患者隔離	接触者調査	アウトブレイク中のAC	患者コホーティング	患者個室隔離	スタッフ・コホーティング	Dedicated nursing	消毒薬浴	接触感染対策	手指衛生	病棟閉鎖	病院閉鎖	患者情報Flagging	環境消毒の強化	内視鏡消毒管理の強化
Kochar S et al. 2009	X	X	X	X	O	X	X	X	O	X	X	O	O	X	X	O	X
Munos-Price LS et al. 2010	X	X	X	X	O	O	O	O	O	O	O	X	X	X	X	O	X
Munos-Price LS et al. 2010	O	X	O	X	O	O	O	X	X	X	X	X	X	X	X	O	X
Calbonne A et al. 2010	X	X	X	O	X	O	X	O	X	X	O	O	X	X	O	X	O
Gregory CJ et al. 2010	O	X	X	X	O	O	X	X	O	X	O	O	O	X	X	X	X
Agodi A et al. 2011	O	X	X	X	X	O	O	X	O	X	O	O	O	X	X	O	X
Borer A et al. 2011	O	O	O	O	O	O	O	X	O	X	O	O	X	X	O	O	X
Ciobotaro P et al. 2011	O	O	X	X	O	O	O	X	O	X	O	O	X	X	O	O	X
Cohen MJ et al. 2011	X	O	X	O	O	O	O	O	O	X	O	O	X	X	O	O	X
Chitnis AS et al. 2012	O	O	X	X	O	O	X	O	O	X	O	O	X	X	O	O	X
Poulou A et al. 2012	X	X	X	X	X	O	O	O	O	X	O	O	X	X	O	O	X
Palmore TN et al. 2013	X	X	X	X	O	O	O	O	X	O	O	O	X	X	X	O	X
Schwaber MJ et al. 2014	X	X	X	X	X	O	O	O	O	X	O	O	X	X	O	X	X

表３　CRE アウトブレイク時の感染対策の報告のまとめ

また、表４に Carbapenamse Producing Enterobacteriaceae（CPE）アウトブレイク時の感染対策のエッセンスを示す。CPE の検出例があれば上記のように過去における見落としの可能性があるので、過去の検出菌のデータを遡って調査する。また検出までの期間における水平伝播の

1. 積極的な保菌調査
   - 1-1. 糞便・直腸スワブ検体を用いる
   - 1-2. 対象：ハイリスクな患者、CREの検出率の高い地域や施設からの患者、同じ病棟の入院患者等
   - 1-3. 水平伝播があった場合は、繰り返し施行
   - 1-4. 医療従事者や家族の保菌調査については原則不要
2. 過去の検出菌のチェック（見落としがないかを遡って調査）
3. 感染対策のケアバンドルの強化
   - 3-1. 患者は個室収容・接触感染対策（必要なら同じCREが検出された患者をコホーティング）
   - 3-2. 手指衛生の強化
   - 3-3. 個人防御具などの単回使用、共用物品の個人使用の徹底
   - 3-4. 患者の個室に入る医療従事者を限定
   - 3-5. 抗菌薬の適正使用
4. 環境管理の強化
   - 4-1. 環境汚染の防止
   - 4-2. 環境消毒回数の増加
5. 患者移動、再入院時の注意
   - 5-1. 情報共有：電子カルテ上のflaggingなど
   - 5-2. 保菌がわかっている場合：直ちに接触感染対策
   - 5-3. 過去の保菌歴のある患者の再入院：接触感染対策をとり保菌調査実施
6. 水平伝播が続く時
   - 6-1. 外部に援助を求める（保健所には適切なタイミングで報告）
   - 6-2. スタッフコホーティング
   - 6-3. 病棟閉鎖、面会制限　など

表４　CPE アウトブレイク時の感染対策のエッセンス（参考文献）より改変

可能性もあり積極的な保菌調査が必要となり、検出された全ての保菌者を含め厳重な接触感染対策をとる。この対策の中には現場スタッフへの教育・啓発や遵守率が90％を超えるような手指衛生の実践、電子カルテの flagging などによる病院内での情報共有が含まれる。水平伝播で保菌者が増加すると、感染症を引き起こすリスクが高くなり、いったん感染症を発症すればその治療が困難で予後が悪いものだけに、厳重な感染対策が求められるのである [19]。

名大病院での CRE 対策の実際

表５に名大病院での監視対象となる薬剤耐性菌の基準を示す。腸内細菌科細菌では、第３世代セファロスポリンであるセフォタキシム（CTX）またはセフタジジム（CAZ）に耐性か、または国の示す CRE の基準を満たすような菌を監視対象としている。CRE の検出基準としては国のサーベイランス基準もあるが、むしろ前者の第３世代セファロスポリン耐性で ESBL 産生菌や AmpC 過剰産生菌などと合わせて検出し、図１Ａに示すにβ - ラクタマーゼ阻害薬を用いた Multiple Disk Synergy Test（MDST）によって、産生されるにβ - ラクタマーゼの種類も鑑別して CPE も検出しようとしている。この方が､CPE の検出に漏れがないと考えられるからである。実際に図１Ｂに示すように IPM-MIC も MEPM-MIC も1μg/ml 以下であるのに、IMP-1型のメタロβ - ラクタマーゼ産生菌も検出されており、また、複数のβ - ラクタマーゼを同時産生する株でもその産生するβ - ラクタマーゼを区別して検出可能である。

平成26年12月19日の厚生労働省医政局地域医療計画課長通知「医療機関における院内感染対策について」を見ると、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌のサーベイランス基準の記載に加え、「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌（VRSA）、多剤耐性緑膿菌（MDRP）、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）、多剤耐性アシネトバクター（MDRA）の５種類の多剤耐性菌については、保菌も含めて１例目の発見をもってアウトブレイクに準じて厳重な感染対策を実施すること」と通知されている。名大病院では、CRE が検出された場合は、MDST を行い CPE であるかどうかを確認し、CPE であれば前記のような同一病棟に入院中の患者に対する積極的保菌調査も含めて厳密な接触感染対策をとることにしている。こ

菌種		条件
グラム陽性菌	*Staphylococcus aureus*	MRSA VCMが I または R TEICが I または R LZDが R　　のいずれか
	Enterococcus 属	VCMが I または R TEICが I または R LZDが I または R　　のいずれか
グラム陰性菌	*Escherichia coli*	CTX または CAZが R IPM-MIC≥2μg/mlかつCMZ-MIC≥64μg/mlまたはMEPM-MIC≥2μg/ml または カルバペネマーゼ産生　　のいずれか
	Klebsiella 属	
	Proteus mirabilis	
	その他の腸内細菌科細菌	CTX または CAZが R IPM-MIC≥2μg/mlかつCMZ-MIC≥64μg/mlまたはMEPM-MIC≥2μg/ml または カルバペネマーゼ産生　　のいずれか
	その他のブドウ糖発酵菌	
	Acinetobacter 属	PIPC/CAZ/CFPMのいずれか2つ以上が R いずれかのカルバペネム系抗菌薬が R いずれかのアミノグリコシド系抗菌薬が R いずれかのキノロン系抗菌薬が R　　のいずれか2つ以上
	Pseudomonas aeruginosa	
	Bacteroides 属	カルバペネム系抗菌薬が R

表５　名大病院における監視対象薬剤耐性菌の基準

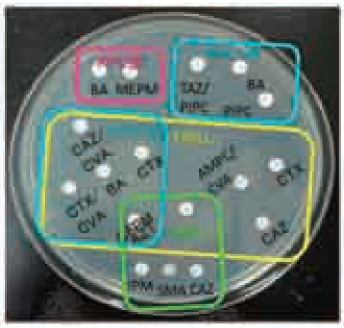


図１Ａ　MDST のでのディスクの配置

	薬剤名	菌株[1]	
1	SBT/ABPC	R	＞ 16
2	PIPC	R	＞ 64
3	TAZ/PIPC	S	≦ 16
4	CEZ	R	＞ 16
5	CTM	NA	＞ 16
6	CCL	R	＞ 16
7	CMZ	I	32
8	FMOX	NA	≦ 8
9	CTX	R	＞ 2
10	CTRX	R	＞ 2
11	CAZ	R	＞ 8
12	SBT/CPZ	R	＞ 32
13	CFPM	R	＞ 16
14	AZT	R	＞ 8
15	IPM	R	≦ 1
16	MEPM	R	≦ 1
17	GM	I	8
18	AMK	S	≦ 4
19	MINO	S	≦ 2
20	LVFX	S	1
21	ST	R	＞ 2
22	FOM	NA	＞ 16

図１Ｂ　CTX-M 型 ESBL+IMP 型メタロ β - ラクタマーゼ産生 *K. pneumoniae* の MDST 法の結果と薬剤感受性結果

れは、CPE では菌の水平伝播に加えて、プラスミド等によるカルバペネマーゼ遺伝子の菌種を超えた拡散のリスクもあるからである。一方で CPE でない CRE は、つまりカルバペネマーゼを産生しない CRE については、通常の接触感染対策を実施している。

名大病院では、CRE が検出された場合は、MDST を行い CPE であるかどうかを確認し、CPE であれば前記のような同一病棟に入院中の患者に対する積極的保菌調査も含めて厳密な接触感染対策をとることにしている。これは、CPE では菌の水平伝播に加えて、プラスミド等によるカルバペネマーゼ遺伝子の菌種を超えた拡散のリスクもあるからである。一方で CPE でない CRE は、つまりカルバペネマーゼを産生しない CRE については、通常の接触感染対策を実施している。

図２に名大病院で経験した事例の概要を示す。Index case は入院３日目に出血性膀胱炎をきたした患者Ａで、その尿検体から CRE の定義に合致する IMP 型カルバペネマーゼ産生大腸菌が検出された（入院第８日目に判明）。直ちに患者Ａを個室に収容し厳重な接触感染対策をとると

図２Ａ　病棟での患者配置

	患者A	患者B	患者C
確定時	Index case	同一クローン	
検出菌	E.coli（CPE）	E.coli（CPE）	E.coli（non-CPE?）
診療科	神経内科		
看護チーム	A	A	B
主疾患	脊髄症	パーキンソン	ALS
入院日	9/24～	8/29～	9/24～
病室	4人床	個室	4人床
ADL	全介助	全介助 歩行訓練中	軽介助
排泄	おむつ	おむつ	介助トイレ
デバイス	尿カテ抜去直後	なし	なし
その他		接触感染対策中	退院直前

図２Ｂ　患者と CRE 菌株の特徴

図２　名大病院での CRE 検出事例

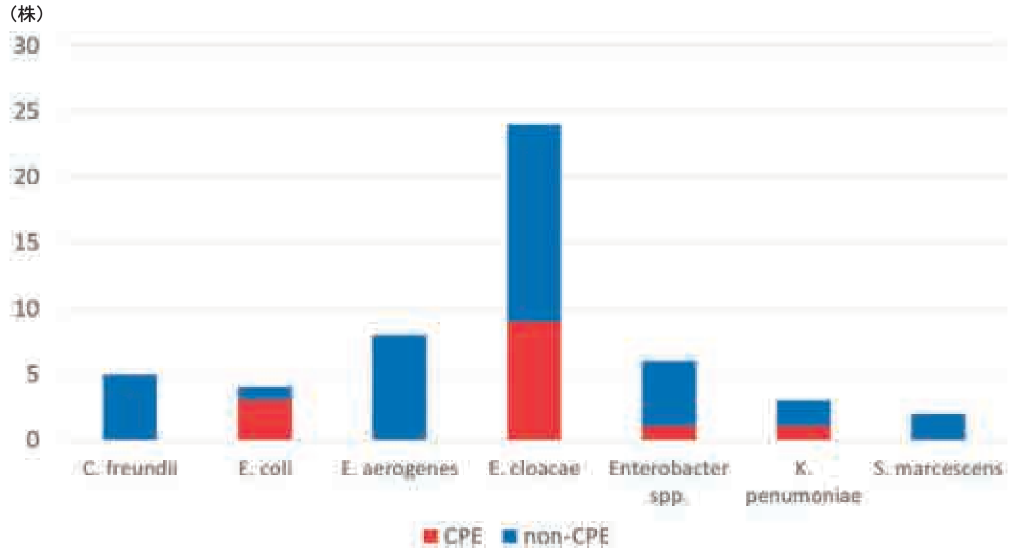


図３　2014年９月以降に名大病院で検出された CRE の菌種別内訳

共に、翌日に同一病棟入院患者に対し積極的保菌調査を行ったところ、２名の新たな保菌者（患者Ｂ，Ｃ）が検出された。菌株の解析からは患者Ｂは水平伝播、患者Ｃは元々別の CRE を保菌していたと考えられた。患者ＡとＣを隣接した個室に収容し、遵守率をモニターしながら可能な限りスタッフコホーティングを含めた厳密な接触感染対策を実施した。医師・看護師をはじめとする当該病棟に関係する医療従事者には、菌の特徴や必要な感染対策等について複数回教育・啓発を行った。アルコール性手指消毒薬の消費量はベースラインから約３倍増加した。当初当該病棟への入院を制限したが、その後の保菌調査で新たな患者は検出されなかったため、２週間後より徐々に新規入院患者を受け入れ、対策開始から10週でアウトブレイクは終息に至った。また、患者家族や転院先の施設への説明は ICT より行うことで、理解が得られるようサポートした。

図３に2014年９月以降名大病院で検出される CRE の菌種ごとの集計を示す。合計52株検出されており、特に *E. cloacae* に検出が多いが、カルバペネマーゼを産生する CPE は全体の約４分の１の14株で、多くはカルバペネマーゼを産生しない CRE である。2014年９月以降の CRE の検出頻度を図４に示すが、CRE の検出は減少しており2015年９月以降 CPE の検出はなく、2016年には４株のカルバペネマーゼ非産生 CRE を検出するのみとなっている。

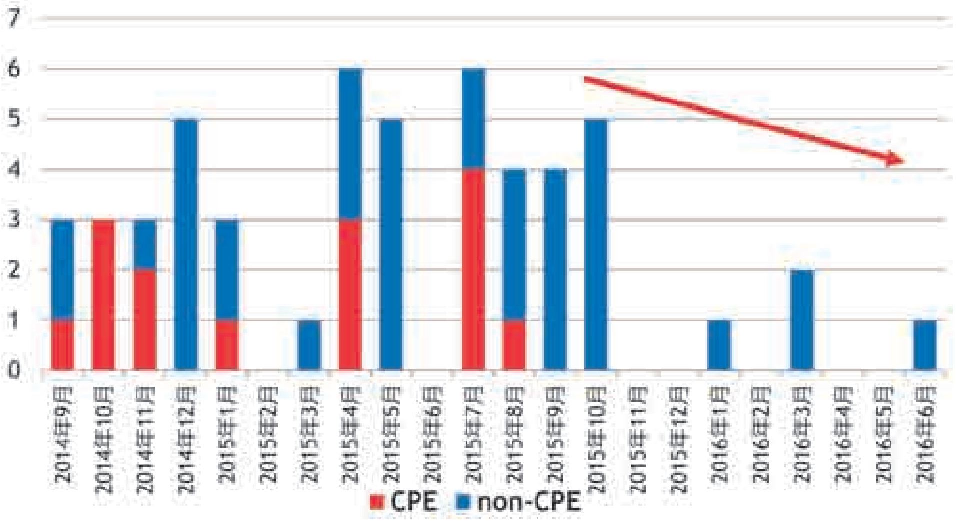


図４　2014年９月以降に名大病院での CRE 検出の継時的変化

おわりに

エビデンスに基づく薬剤耐性菌対策として、一般的な薬剤耐性菌対策の多面的な考え方を提示して、その後CREに焦点を絞ってアウトブレイク時の対策のエビデンスを紹介し、実際に名大病院でCREの検出から対策をどのように行っているか、実例を示して紹介した。皆さんの施設での感染対策に少しでも役に立てば幸いである。

参考文献

1）Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 268-281.

2）安部朋子、永田由美、青木知信ほか　プラスミド水平伝達が関与した院内感染事例　IASR 35：289-290, 2014年12月号

3）山岸拓也、松井珠乃、大石和徳ほか＜速報＞大阪市内大規模病院におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の長期間にわたる院内伝播　IASR 35：290-291, 2014年12月号

4）Livornese LL, Dias S, Samel C, et al. Hospital-acquired Infection with Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* Transmitted by Electronic Thermometers. Ann Intern Med. 1992; 117: 112-116.

5）Brooks S, Khan A, Stoica D, et al. Reduction in Vancomycin-Resistant Enterococcus and Clostridium difficile Infectionsfollowing Change to Tympanic Thermometers. Infect Control Hosp Epidemiol 1998; 19: 333-336.

6）Nagao M, Iinuma Y, Igawa J, et al. Control of an outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a haemato-oncology unit. J Hosp Infect. 2011; 79: 49-53.

7）Seki M, Machida N, Yamagishi Y, et al. Nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* caused by damaged transesophageal echocardiogram probe used in cardiovascular surgical operations. J Infect Chemother. 2013; 19: 677-681.

8）Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* Nat Revs Microbiol. 2007; 5: 939-951, 2007.

9）Boyce JM. Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals Antimicrob Resist Infect Control 2016; 5: 10.

10）Epstein L, Hunter JC, Arwady A, et al. New Delhi metallo-E-lactamase-producing carbapenem-resistant *Escherchia coli* associated with exposure to duodenoscopes. JAMA 312: 1447-1455, 2014.

11）Kola A, Piening B, Pape U-F, et al. An outbreak of carbapenem-resistant OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* associated to duodenoscopy. Antimicrob Resist Infect Control. 2015; 4: 8.

12）Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, et al. 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings.

13）Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, et al. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect. 2012; 18: 432-438.

14）Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing: Twenty-fifth Information Supplement M100-S25. CLSI, Wayne, PA USA.

15）Nordmann P, Poriel L, Dortet L. Rapid Detection of Carbapenemaseproducing *Enterobacteriaceae* 2012; 18: 1503-1507.

16）van der Zwaluw K, de Haan A, Pluister GN, et al. The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram-Negative Rods. PLoS ONE 2015; 10: e0123690.

17）荒川宜親　カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*，CRE）等新型多剤耐性菌のグローバル化と臨床的留意点　日本化学療法学会雑誌　2015；63：187-197.

18) Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. Int J Antimicrob Agents 2006; 27: 351-353.
19) Savard P, Carroll KC, Wilson LE, et al. The challenges of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and infection prevention: Protecting patients in the chaos. Infect Control Hosp Infect. 34: 730-739, 2013.

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）

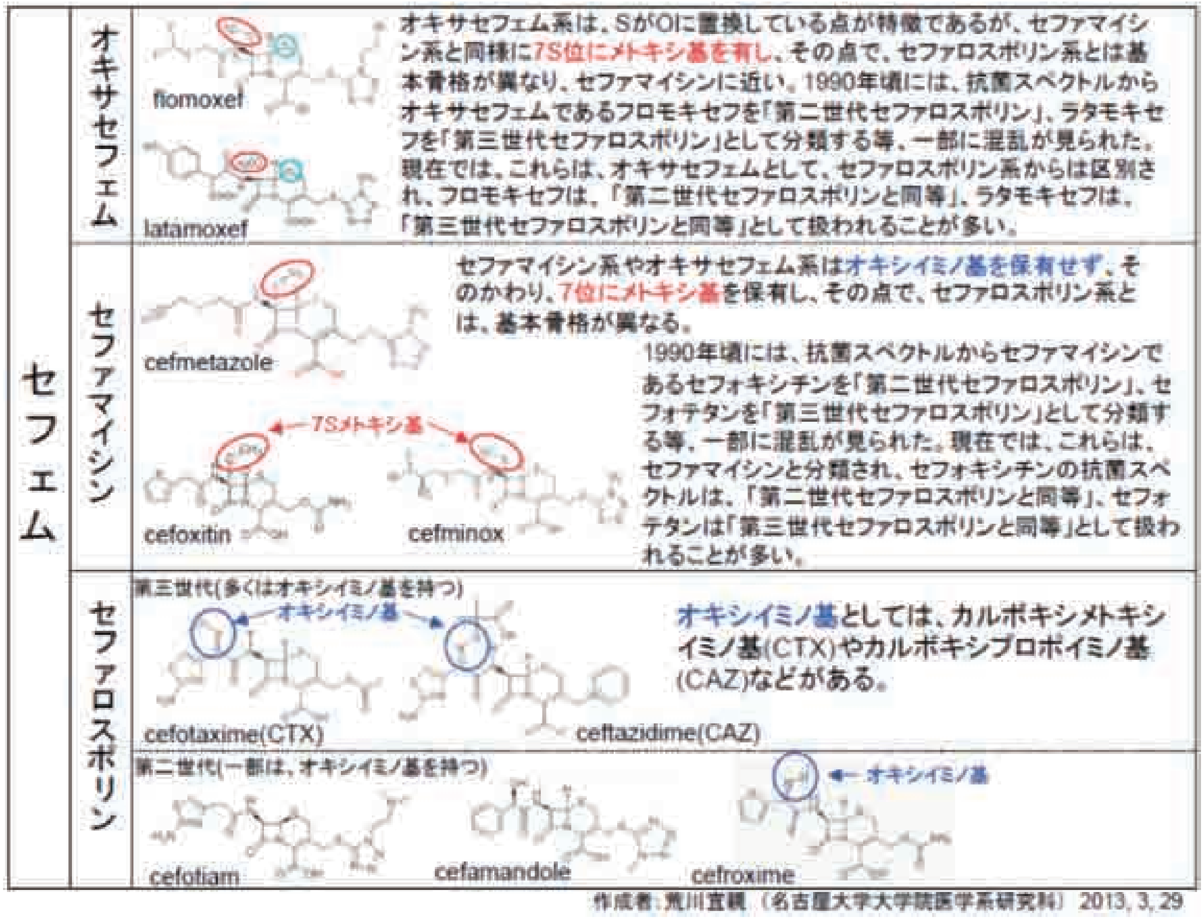
Ｑ１：第三世代セフェムと第三世代セファロスポリンはどうちがうのですか？

Ａ１：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（下記の分類表)。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。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 cephems」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, cephems, includes the classical cephalosporins, as well as the agents in subclasses cephamycin, oxacephem, and carbacephems (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)



Ｑ２：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、「関連性が無い」とか「別株」と判定しても良いですか？

Ａ２：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「関連性が無い」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 解析を実施するとか、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。

Ｑ３：腸内細菌と腸内細菌科とはどう違うのですか？

Ａ３：「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」に含められているようです。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。

Ｑ４：ESBL には CMY 型や MBL も入るのですか？

Ａ４：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≒オキシイ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。

Ｑ５：「尿から分離された大腸菌の IPM に対する MIC は16㎍/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？

Ａ５：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㎍/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。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。

Ｑ６：CTX-M- 型 ESBL 産生菌で、セフォタキシム耐性とともに 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？

Ａ６：CTX-M- 型 ESBL 産生株は、文字通り、セフォタキシム（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チ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タジジム（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のクループでは 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。

Ｑ７：「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、どうなんでしょうか。

Ａ７：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 (ST2)（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 ST2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 ST2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染症研究所などに依頼する必要があります。

Ｑ８：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㎍ /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？

Ａ８：一般的にメタロ - 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㎍ /ml 以上となり、128㎍ /ml 程度に達する場合もあります。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などを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。

Q９：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うちがうのですか？

Ａ９：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-2Na を20μｌ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。

Q10：セフポ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ポドキシムの 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？

A10：*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、多くの株はセフポ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、セフポドキシム耐性が伝達するか否かを調べることが鑑別に役立ちます。

Q11：2013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？

A11：「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。

Q12：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？

A12：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。

Q13：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 ㎍ /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？

A13：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。

Q14：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でしょうか？

A14：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因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。

Q15：２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でしょうか？

A15：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ないかなどを調べ、必要な衛生管理を徹底していただく必要があります。

Q16：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？

A16：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。

Q17：CAZのMICが32μg/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１μg/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でしょうか？

A17：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32μg /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クエンスによっては、「陽性」と誤判定される場合があり、注意が必要です。

Q18：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でしょうか？

A18：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 型セファロスポリナーゼ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。

Q19：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？

A19：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。

Q20：我が国で1997年頃にバンコマイシンの MIC が８μg /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になっているのでしょうか？

A20：客観的事実として、バンコマイシンの MIC が８μg /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２μg /ml 以下が大半で、２～４μg /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２μg /ml と判定された株では、Etest では、MIC が1.5μg /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８μg /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100μg /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。

Q21：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でしょうか？

Ａ21：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（Carvalhaes 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。

Q22：*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、ST2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？

Ａ22：*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、ST2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 ST2に含まれることが多いです。

Q23：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？

Ａ23：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。(**参考資料（医政指発0617第１号）**、139頁の黄色でハイライトした部分などがその根拠)

Q24：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？

A24：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。

Q25：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でしょうか？

A25：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。

Q26：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16μg /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でしょうか？

A26：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ので、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。

Q27：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下さい。

A27：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

Q28：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下さい。

A28：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。

Q29：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か？

A29：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りうる。
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。

Q30：MEPM 耐性（MIC, 8 ㎍/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 ㎍/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、ISMRK 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？

A30：「ISMR」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「ISMRK：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「ISMRE」や「ISMRP」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、「ISMRP」という略名は用いない方が良いと思います。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「ISMRP」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。

Q31：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８μg/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でしょうか？

Ａ31：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薦めします。その結果、感染症法の届け出基準（バンコマイシンMIC値16μg/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、仮に実施しないとなると「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ないと思いますが、回答者としては薬剤感受性試験の実施を強くお薦めします。）

薬剤感受性試験の結果、バンコマイシンのMIC値が16μg/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「厚労省通知」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（厚労省通知：Ｈ９年　VRE通知、H10年　VRE通知、H11年　VRE通知）

Q32：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？

Ａ32：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が、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、Q23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。

Q33：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。

A33：MRSA が獲得している PBP2' は、メチシリンとの親和性が低く、阻害されないので「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。

Q34：CTX と CAZ、CFPM などに広範な耐性を示し、クラブラン酸（CVA）を用いた試験で「陽性」と判定され、ESBL 産生が疑われる *E. coli* 株が分離されました。しかし、TEM 型、SHV 型、CTX-M 型、GES 型などの遺伝子を検出する PCR では全て「陰性」となりました。また、アミノフェニルボロン酸を用いた試験では「陰性」との判定結果が出ています。どのように考えたら良いでしょうか。

A34：CVA を用いた試験で、「陽性」と判定されるのであれば、クラスＡの ESBL を産生していることが最も考えられます。最近、CTX-M 型で CTX-M-1グループと CTX-M-9グループの二種類の遺伝子が融合したキメラ形の新しい CTX-M 型 ESBL が中国などで出現して来ていますが、それらは一般的に用いられている CTX-M 型の判別のための PCR では検出できません。キメラ型の CTX-M 型 ESBL の例としては、CTX-M-64、CTX-M-123、CTX-M-132（GenBank accession no. JX313020）、それに CTX-M-116（CTX-M-1グループに属する CTX-M-22と CTX-M-23の融合型）などが、海外から報告されていますので、それらも考慮して解析をする必要があります。

Q35：英文論文を読んでいるとカルバペネムに耐性を示す腸内細菌科細菌を、ある論文ではCRE と表記し、一方別の論文ではCPEと表記したりしていますが、どのような違いがあるのですか？

A35：CREは主に米国で用いられています。その理由は米国ではKPC型カルバペネマーゼを産生する肺炎桿菌等が主流であり、それらの殆どは、通常の薬剤感受性検査で、カルバペネムに「耐性：R」と判定されるため、「carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: CRE」と表記されます。一方、CPEは主に欧州方面の論文で多く用いられています。その理由は、NDM型やVIM型のMBL産生株が多い欧州では、たとえばNDM-1産生肺炎桿菌であっても、必ずしもカルバペネムに「耐性：R」と判定されるわけではなく「中間：I」や「感性：S」と判定される場合もあるため、「carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: CPE」と表記されることが多いということです。実質的にはCREもCPEも同じ耐性菌を意味します。

Q36：Modified Hodge Test（MHT）ですが、なにをModifiedしたものなのか？　原法は何ですか？

A36：米国ワシントン州にあるWalter Reed Army Medical Centerに在籍していたWavell Hodgeらは淋菌のペニシリナーゼ産生株を簡便に検出する方法を考案し、1978年にJCMに発表した。
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/415067>

この方法では、MH寒天培地上に、ペニシリン感性の*S. aureus*（ATCC 25923）を塗布し、そこにペニシリナーゼを産生する陽性株、ペニシリナーゼ非産生株（陰性株）、さらに被検株をストリークし、その中央にペニシリンを10U含むKB diskを置いて、一夜培養すると、ペニシリナーゼを産生する菌株のストリークに沿って、発育阻止円の形が歪むことから、ペニシリナーゼ産生株を容易に検出できるというものであった。この方法は、ペニシリナーゼを産生する、*Haemophilus influenzae*、*Escherichia coli*、*Serratia marcescens*、および*S. aureus*などにも応用可能であった。その後、韓国の延世大学医学部のKyugwon Leeらは、上記の方法をメタロ-β-ラクタマーゼ（MBL）を産生する*Acinetobacter*属菌などの検出に応用することを考え、その方法を、Modified Hodge test（MHT）と命名し2001年にClin Microbiol Infectに発表した。
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11298149>

この方法では、MH寒天培地上にペニシリン感性のE. coli ATCC 25922を一面に塗布し、そこにMBLを産生する陽性株、MBLを産生しない陰性株、それに被検株をストリークし、中心にイミペネムのdiskを置いて一夜培養すると、MBL産生株のストリークに沿って、発育阻害帯が歪むため、MBL産生株を容易に識別できるというものであった。この方法は、最近、KPC産生肺炎桿菌（CRE）の検出法の一つとしてCDCによっても推奨されているが、検出にはエルタペネム diskがより適しているとされている。なお、「hodge」には、「田子作」や「田舎男」などという意味を持つため、英語圏では名前の印象があまり良くないせいか、最近では、MHTは「cloverleaf test」とか「clover-leaf test」と記述されることもある。

Q37：和文の論文や報告書などで、「IMP-1型」と書いてある場合と、「IMP-1」と書いてある場合がありますが、どのように違うのでしょうか？

A37：「IMP-1型」という場合は、通常はIMP-1の遺伝子を検出可能なPCRで陽性になったけれども、DNAのシーケンス解析がされておらず、IMP-1と類似のIMP-6やIMP-10などの可能性も否定できない場合などに「IMP-1型」と表記される場合が多いです。一方、DNAのシーケンス

解析が終わりIMP-1と特定された場合には「IMP-1」と記載されます。同様に、「CTX-M-9型」や「CTX-M-9 group」という用語は、CTX-M-9の遺伝子を検出するPCRで陽性になったけれども、CTX-M-9かCTX-M-14、あるいはCTX-M-27なのか区別ができていない場合に用いられます。

Q38：IMP-6の遺伝子（blaIMP-6）を保有する肺炎桿菌と*Enterobacter cloacae*が分離されました。二株について、blaIMP-6を担うプラスミドの接合伝達実験とPCRによるInc型の判定を行ったところ、肺炎桿菌はIncK、*E. cloacae*ではIncN、と異なるInc型のプラスミドによりblaIMP-6が媒介されている事が分かりました。そこで、「両者のblaIMP-6は起源が異なる」とか、「IMP-6陽性の肺炎桿菌とE. cloacaeは、分子疫学的に無関係」と断定して良いでしょうか？

A38：結論から言いますと「断定できません」。その理由は、blaIMP-6を担うインテグロンやそれを含むトランスポゾンの構造が両者で概ね一致する可能性もあり、その場合は、blaIMP-6を担うインテグロンやそれを含むトランスポゾンが、菌の中で、IncKとIncNとのプラスミドの間で転移し、その後、何れか一方が消失、脱落した可能性も残るからです。正確に断定するには、プラスミド全体の遺伝子配列の比較解析が必要になります。

Q39：下痢患者の便培養で、カルバペネム耐性の肺炎桿菌（CRE）が分離されました。「CREによる感染症」と判定してよいでしょうか？

A39：肺炎桿菌は、通常では腸管毒素や下痢毒を産生せず、下痢の原因にはならず、むしろ正常な腸内細菌叢を構成する菌種の一つです。したがって、カルバペネム耐性を獲得しても肺炎桿菌が下痢の原因になることはありません。下痢の原因は、ウイルス性や他の細菌によるものや、カルバペネム等の広域β-ラクタム薬などの抗菌薬の投与に伴う菌交替による下痢症なども想定されます。しかし、一部の肺炎桿菌ではLTやSTなどを産生するものがごく稀にですが分離されることがあります。〈http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8433897〉

また、大腸菌では、ETECやEPEC、EHECなど下痢を引き起こす株が存在しますので、そのような株が今後カルバペネマーゼの遺伝子を獲得しCRE化する可能性もあります。なお、*Klebsiella oxytoca*が抗菌薬の投与中に下痢便から分離されることがありますが、既に、*K. oxytoca*のカルバペネマーゼ産生株も国内外で報告されていることを念頭に置き、検査や解析、対策が必要になります。重要なこととしては、下痢患者の便からCREが検出される場合は、患者周囲の汚染を引き起こしやすく、CREのアウトブレイクの原因となる危険性が高いので、個室管理等を含めた接触予防策の徹底が必要になります。

Q40：CREによる感染症が5類全数報告疾患に追加されましたが、届け出には、カルバペネマーゼ遺伝子の検出や型別は必要でしょうか？

A40：感染症法に基づく届け出は、日常的な検査業務として実施されている薬剤感受性試験の結果、厚労省が示す「届出のために必要な検査所見」に合致すれば届け出が必要ですが、カルバペネマーゼ遺伝子の検出や型別は不要です。

Q41：血液培養で大腸菌が分離され、自動検査装置による薬剤感受性試験ではメロペネムのMIC値が1μg/ml と出て「S」と判定されましたが、念のため disk 拡散法を実施したところ、発育阻止円の直径は21㎜となりました。どのように判断したら良いでしょうか？

A41：厚労省が示す「届出のために必要な検査所見」では「メロペネムの MIC 値が2μg/ml 以上であること、又はメロペネムの感受性ディスク（KB）の阻止円の直径が22㎜以下であること。」となっているので、再検査をして同じ結果が出た場合は、disk 拡散法による判定結果を優先し、保健所に届け出て頂く必要があります。

Q42：メロペネムの MIC が4μg/ml と判定された *Enterobacter cloacae* が血液培養検査で分離されたので、PCR 検査を実施したところ、IMP、VIM、NDM、KPC、OXA-48などの遺伝子は全て「陰性」でした。このような、カルバペネマーゼを産生しないと考えられるカルバペネム耐性株による感染症患者についても、感染症法に従い保健所に届け出る必要があるのでしょうか？

A42：感染症法では、厚労省が示す「届出のために必要な検査所見」に合致すれば、特定のカルバペネマーゼ遺伝子を保有していなくても、届け出を求めています。

Q43：患者の血液培養検査により、イミペネムの MIC が1μg/ml で「S」と判定されるものの、セフメタゾールを含む多くのセフェム系薬に対し耐性「R」と判定される *Klebsiella pneumoniae* が分離されました。当病院では、腸内細菌科の菌種に対する薬剤感受性試験ではカルバペネム系抗菌薬としてイミペネムを採用しており、メロペネムは検査していないので、厚生労働省が示す CRE 感染症と診断するための「届出のために必要な検査所見」に合致するかどうか不明です。このような場合、どうしたら良いでしょうか？

A43：本分離株に対して、個別にメロペネムの薬剤感受性試験の実施をお勧めします。しかし、貴院における腸内細菌科に対する薬剤感受性試験の指標薬を、イミペネムからメロペネムに全面的に切り替えて頂く必要はなく、CRE が疑われる株が分離された場合に限って、disk 拡散法や Etest などでメロペネムへの耐性度を確認して頂くということが実際的と思います。

Q44：カルバペネム耐性肺炎桿菌が１名の患者の喀痰検査で検出されたので、同病棟の入院患者さんの喀痰や便のスクリーニングをしたところ、５名の患者から同様な株が分離されました。全員「保菌」と考えられたため、感染症法に基づく届け出は、「不要」と判断しましたが、医政局指導課の課長通知や事務連絡などに従い感染制御の徹底とともに保健所への相談を考えています。そこで、適切に感染制御を実施するため、一連の分離株のカルバペネマーゼの遺伝子型別や分子疫学解析をしたいと考えています。しかし、当院の細菌検査室ではそれらの解析を実施できません。どのようにしたら良いでしょうか？

A44：診療のための臨床分離菌の解析は、原則としては病院の責任で行って頂く必要があり、民間の検査センターの中からカルバペネマーゼの遺伝子型別や分子疫学解析を有料で実施してくれる所を探して委託して頂くのが基本です。しかし、そのような解析を請け負ってくれる検査センターが見つからない場合には、各都道府県に設置されている地方衛生研究所が解析してくれる場合もあり、保健所と相談して頂くのが良いでしょう。また、近隣の大学病院等の連携医療機関や大学の細菌学教室などにご相談して頂くことも良いでしょう。

Q45：最近、海外からのCREや多剤耐性アシネトバクター（MDRA）の侵入が問題となっています。医療機関側としてどのような点に注意したら良いでしょうか？

A45：患者さんの問診の際に、海外渡航歴を必ず確認し、数ヶ月以内にCREやMDRAが広がっている地域に滞在したりそこで医療行為を受けたことがある患者さんの場合は、それらの地域で問題となっている薬剤耐性菌の検査を実施し、検査結果が出るまでの数日間は、「保菌者」と見なして、可能な限り「個室管理」を含めた接触予防策の励行をお勧めします。

Q46：今回、感染症法が改訂されてカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症が新たに5類全数報告疾患に追加指定されました。このなかで、「メロペネムのMIC値が2μg/ml以上であること、又はメロペネムの感受性ディスク（KB）の阻止円の直径が22㎜以下であること」というようにメロペネムであればそのままCREとして届出になるのに対して、イミペネムの場合にはセフメタゾール耐性も確認しなければなりません。どうしてでしょうか？

A46：理由は2つあります。1つ目は、*Proteus* 属や *Providencia* 属などの腸内細菌科の菌種は、生来IPMに低度耐性（2-4μg/ml）を示す株がありますが、それらはカルバペネマーゼを産生しておらず、また他の多くのセフェム系には「感性」と判定されるため、セフメタゾールに「耐性」という条件を付して、それらを今回の報告対象から除外するためです。2つめは、ESBLの過剰産生株で外膜の変化を同時に獲得するとIPMのMICが「R」領域に来ることがありますが、それらは通常、セファマイシンであるセフメタゾールに「感性」と判定されます。したがってESBLの過剰産生株で外膜の変化を同時に獲得した「CREもどき」株を除外するためです。ただし、この基準でもAmpCを過剰に産生し、外膜蛋白の変化を獲得した *Enterobacter* や *Citrobacter, Klebseilla* 属等を除外することは難しいです。その場合、アミノフェニルボロン酸を用いることで、識別が可能になる場合もあります。薬剤感受性試験でメロペネムを用いた場合は、上記をあまり考慮する必要がないということです。

Q47：抗菌薬を使用するとその抗菌薬に耐性を獲得した薬剤耐性菌が出現するので注意が必要と言われていますが、抗菌薬の投与は耐性菌の出現を促進するのですか？

A47：多くの抗菌薬は通常では、細菌の遺伝子の塩基配列の突然変異を引き起こすなどの作用（変異原性）はありませんので、抗菌薬を使用することで細菌の遺伝子の変異が誘発や誘導されて薬剤耐性菌が出現しやすくなると言う事はありません。抗菌薬を使用してもしなくても、細菌は一定の頻度で染色体DNAの塩基配列の変異を起こしており、抗菌薬を使用していると、偶然、その抗菌薬に抵抗性や耐性を付与する遺伝子に変異を獲得した菌株が生き残って増殖し増えてくるので、見かけ上、薬剤耐性菌が「出現」したように見えるのです。このような現象を「変異と選択」と呼びます。つまり、抗菌薬の投与は「変異」には通常は影響しませんが、「選択」には影響するということです。

Q48：（一般の方よりの質問）ニュースで薬剤耐性菌の問題が報道されていたので、薬剤耐性菌が体内で増えるといけないと思い、病院で処方してもらった抗菌薬の量を指示された服用量より少なめ（1日3回内服を2回にするなど）に服用していますが、これでいいでしょうか？

A48：薬剤耐性菌の増加を防ぐと言う観点からは、そのような抗菌薬の内服は危険です。中途半

端な量の抗菌薬の内服は病原菌を完全に殺さず、半殺しの状態にし、そのような状態が長く続くと死にかけた菌の中から耐性菌が選択されて、逆に耐性菌を増やす結果になる危険性があります。そこで、病院で処方された抗菌薬は、決められた量を必用な期間きちんと飲み切る事が大切です。

Q49：プラスミドには、自己伝達能力のあるものと、伝達しにくいものがあると聞きました。私の病院で分離されたセフォタキシムとゲンタマイシンの両方に耐性を獲得した肺炎桿菌からプラスミドを抽出しアガロースゲル電気泳動をしたのですが、大きいプラスミド（＞120Kbp）と小さいプラスミド（15Kbp程度）が２つありました。ゲンタマイシン耐性は容易に伝達し、その遺伝子は、大きなプラスミドにより媒介されている事が示唆されました。しかし、自己伝達能を持たないと思われるセフォタキシム耐性を担う小さいプラスミドも低頻度ですが、大きいプラスミドとともに伝達されるようです。これはどうしてでしょうか？

A49：自己伝達能を有しない小さいプラスミドも、自己伝達能を持つ大きなプラスミドの伝達時に一緒に伝達される事があり、この現象は古くからmobilizationと呼ばれています。したがって、自己伝達能を持たない小さいプラスミドも自己伝達能を有するプラスミドの接合伝達に伴って、同種の菌株間や別の菌種に徐々にですが、伝達拡散する場合があります。

Q50：私の病院では、IMP-1型MBLを産生する大腸菌が数ヶ月に亘り数名の患者から分離され、その後、肺炎桿菌からもIMP-1型MBL産生株が分離されるようになりました。それぞれの大腸菌と肺炎桿菌からIMP-1型MBLの遺伝子を保有するプラスミドを抽出し電気泳動したところ、大きさもやや異なり、制限酵素切断パターンでは、同じサイズのバンドも２～３本見られましたが、全体としてかなり異なっていました。そこで、両耐性株は疫学的、遺伝的に関連性が無いと判断しようと思いますが、それでよろしいですか？

A50：プラスミドは、自己複製の際や、細菌の細胞分裂や接合伝達の際に、種々の挿入配列(IS)やそれで挟まれた領域が脱落したり、別の箇所に転位したり（トランスポゾン)、あるいは他のプラスミドと融合したりして、数ヶ月の間にサイズや制限酵素切断パターンが変化する事が良くあります。そこで、両プラスミドの疫学的、遺伝的関連性を正確に判断するには、IMP-1型MBLの遺伝子を担う領域に存在する遺伝子の並び順や、さらにIMP-1型MBL遺伝子の前後を含む遺伝子領域の中に見られる点変異部位のパターンの比較をするなどの詳しい解析が必用になります。このような解析には特殊な知識と技術が必用ですので、近隣の大学病院の検査部や細菌学教室の先生にご相談下さい。

Q51：既知のカルバペネマーゼを産生することなく、おそらく染色体性のAmpCの産生増量と外膜ポーリンの欠失によると思われるイミペネム耐性（MIC，8μg/ml）の*E. cloacae*がこの半年間に30名程度の患者の喀痰や尿などから断続的に分離されています。ICTのチーフは、感染症科以外がご専門の先生ですが、NDMやIMP、KPCなどのカルバペネマーゼが陰性のため、この種の耐性菌は「常在菌」という理解で、保菌調査はせず、標準予防策のみで良いと判断しておられます。それで良いのでしょうか？

A51：この事例については感染対策上問題がある可能性があります。耐性株の水平伝播が非常に

疑われますし、AmpC 過剰産生とポーリン欠失でおそらくほとんどのβ - ラクタム剤に耐性となり、もし感染症の起因菌となってしまった場合、治療の選択肢が限られることになるからです。感染対策としては、接触感染予防策でどの位厳重にするのか、どの程度検出されれば積極的保菌調査を行うのかは各施設での考え方によると思われますが、感染症診断のための検査だけで30例確認されているとなると、すでにかなりの保菌者がいると推察されます。今回の場合は水平伝播が起きているかどうかを、少なくとも調査する必要があるのではないかと思われます。水平伝播が確認されるようなら、感染対策は標準予防策だけでなく、接触感染予防策が必要になります。万一、菌血症等の感染症を発症した場合は、有効性が期待できる抗菌薬による単剤もしくは状況に応じて併用療法も考える必要があると考えられます。

Q52：薬剤耐性遺伝子などを媒介するプラスミドの性質を記述する時に IncK とか IncF とか書いてある場合がありますが、これは何を意味しているのでしょうか？

A52：プラスミドは同じ細菌細胞に複数個存在し、細菌細胞内で自己複製し、細胞分裂の際に娘細胞に分配されて行きます。また、同じ細胞内に大きさや担う遺伝子のセットが異なる複数種類のプラスミドが同時に共存することも多くみられます。しかし、プラスミドの中には、同じ細菌細胞内で共存できないタイプもあります。つまり2種類のプラスミドが同じ細菌細胞内で共存しつつ複製できない関係の場合には、両者のプラスミドは同じ不和合性群（incompatibility group）に属すると言います。このようなプラスミド相互の「incompatibility」に影響する性質を Inc 型と呼び、IncF や IncK、IncN、IncP 等の様々なタイプに分けて命名されています。さらに、IncF も IncFI とか IncFII などと細かく分類されています。ちなみに、IncK 型のプラスミドを持つ細菌細胞内に他の細菌細胞から IncF のプラスミドは接合伝達などで取り込まれ、共存し得ますが、サイズや担う遺伝子のセットが異なる IncK のプラスミドが伝達した場合には、やがてどちらかが排除され消えてしまうことになります。プラスミドの Inc 型は、プラスミドの複製に関与する複製開始点（replication origin、略して ori）およびその近傍の塩基配列の違いにより型別できる場合があり、PCR による Inc 型別法が報告されています（参考文献）。

Q53：カルバペネム耐性の *Enterobacter cloacae* が分離されたので、SMA disk 法で調べたところ「陽性」となりました。そこで、PCR 解析をしたところ、「IMP-1型」と判定されました。ICTの責任者に、「IMP-1型 MBL 陽性の *E. cloacae* が検出されました。」と報告したところ、「IMP-1型は、昔から日本でしばしば報告があるタイプで、国際的に警戒されている NDM-1型や KPC 型などとは違うので、標準予防策を励行しつつ、様子を見ましょう。」というご判断でした。これでよろしいでしょうか？

A53：結論としては、適切な判断とは言えないと思われます。IMP 型は、NDM 型や VIM 型、KPC 型に比べ、カルバペネムを分解する活性が強いので、細菌学的には、IMP 産生株の方が NDM 産生株などより、危険な株と考えられます。*Enterobacter* 属菌は、ヒト消化管に保菌され易い菌種で、便などを介して伝播する傾向がある菌種です。そこで、この菌種が MBL を産生するという事であれば、標準予防策に加え、排便介助や便の処理等の際に接触感染予防策が必要になって来ると思われます。つまり、国内でしばしば分離される IMP-1産生株であっても海外で警戒されている NDM －1産生株などと同様に、十分な接触感染予防策の実施が必要と思われます。

Q54：CRE や多剤耐性アシネトバクターが複数の患者から分離され、感染制御策を講じるために、分離された一連の薬剤耐性株の詳しい分子疫学的な解析が必要になりました。しかし、PCR や PFGE 解析、POT 法、MLST 解析等は、健康保険で経費が出せないため、病院の検査室では実施できず感染制御上限界があるというのが実態です。なぜ、これらの検査が、健康保険で実施できないのでしょうか？

A54：健康保険が使える検査は、患者さん個々人の病態を診断したりするための検査です。しかし、PCR による薬剤耐性遺伝子の検査や PFGE 解析、POT 法、MLST 解析などは、患者さん個々人の診断や治療方針を立てるための検査ではなく、病院の安全管理業務の一環としての感染制御のために必要な検査ですので、そもそも健康保険で支出されるべきものではありません。そのかわり、感染制御や感染管理に必要な検査や解析のための経費は、「感染防止対策加算」を充当することができるはずですので、ICT の責任者を通じて病院管理部とご相談下さい。

Q55：最近、GES 型のカルバペネマーゼという話を聞いたのですが、どのような特長があるのでしょうか？

A55：GES 型のカルバペネマーゼとして国際的に注目されているものとしては、GES-5というタイプがあります。既に国内では、GES-5を産生する緑膿菌が関西地区の病院でアウトブレイクを起こしています。さらに、国内では、GES-4型も、肺炎桿菌で報告されています。これらの GES 型カルバペネマーゼは、GES-1や GES-3などの GES 型 ESBL と比べ、酵素の活性ポケットの一部を構成する170番目のグリシン（G：Glycine）というアミノ酸がセリン（S：Serine）に置換した共通構造を有しています。分子分類的には、KPC 型カルバペネマーゼにやや近い構造をしています。なお、カルバペネムを分解する能力は、カルバペネマーゼの中では比較的弱い部類に入り、GES-5産生株は、OXA-48産生株などとともに、「Carba NP test」や「Modified-Hodge test」では「偽陰性」となる場合があるので注意が必要です。

Q56：NDM-1はカルバペネム系を分解する酵素なので、アミノ配糖体系やフルオロキノロン系は分解や不活化はできないと理解しています。しかし、NDM-1産生肺炎桿菌などは、カルバペネム系以外にも別系統のアミカシンやシプロフロキサシンにも多剤耐性を示す傾向が強いですが、どうしてでしょうか？

A56：たしかに、NDM-1はカルバペネム系を分解しますが、系統の異なるアミノ配糖体系やフルオロキノロン系は、分解や不活化ができません。しかし、NDM-1産生株は、多くの場合、アミノ配当体系抗菌薬の標的分子である16S rRNA をメチル化することでアミの配当体が標的部位に結合できなくしてしまう酵素（ArmA，RmtB，RmtC など）やアミノ配糖体を修飾して不活化する酵素（AAC や APH など）を同時に産生する株が多いです。また、NDM-1の遺伝子を媒介する伝達性プラスミドには CMY 型のセファロスポリナーゼの遺伝子も乗っており、さらに CTX-M- 型の ESBL の遺伝子も共存する別の伝達性プラスミドにより媒介されている事例が多いです。それに加え、NDM-1産生株の多くでは、染色体依存性に産生される DNA gyrase（GyrA）や Topoisomerase IV（ParC）のキノロン耐性決定領域（QRDR）にアミノ酸置換を獲得しており、フルオロキノロン系薬が効きにくくなっています。その結果、これらの複数の耐性メカニズムが総合的に働き、NDM-1産生株は多剤耐性と言う形質を獲得しています。

Q57：薬剤耐性プラスミドの不和合性型（Incompatibility type）には、IncA/C や IncF、IncN、IncI1、IncK、IncP、IncW など沢山あり、IncF は、IncFI や IncFII、さらに、IncFIA や IncFIB などと細かく分類されているようです。学会などでの発表の際などに、IncFI の「I」が、ローマ数字の「I：one」なのか、あるいはアルファベットの「I：ai」なのか、はっきりせず、混乱があるようですがどちらなんでしょうか？

A57：IncFI や IncFV の「I」や「V」についてですが、それらは、アルファベットの「I」や「V」ではなく、ローマ数字であり、「one」や「five」を意味します。その根拠は、IncF 型には、IncFIV や IncFVI というのもあり、「IV」は「four」、「VI」は「six」に相当します。しかし、IncI1の「I」は、アルファベットの「I」ですので、混乱しないようにしましょう。
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3015005
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6308130

Q58：「クロモゾーム」と「ゲノム」との違いがよくわかりません。「薬剤耐性に関与する遺伝子は、プラスミドではなくゲノム上に存在していた。」と記載したら、「間違っている」と指摘を受けました。どういうことなのでしょうか？

A58：クロモゾーム（chromosome）とは、染色体のことで、細菌の場合は相補的な二本のデオキシリボ核酸（DNA）の鎖が螺旋状に絡んだ環状構造をしています。また、細菌細胞内には、染色体より小さな自己複製可能な環状 DNA が複数コピー、場合によっては複数種類存在し、それらはプラスミドと総称されています。一方、ゲノム（genome）とは、それぞれの生物の生物学的特性（形質）を安定的に維持するためのすべての遺伝情報、言い換えれば物質である DNA から構成される染色体やプラスミド上に遺伝子として暗号化された、特定の生物の生物学的特性を決定する遺伝情報のすべて（総体）を意味する用語として現在使用されています。したがって、プラスミド上に暗号化されていてその菌株の特性を決定する遺伝情報もゲノムの一部ですので、「薬剤耐性に関与する遺伝子はプラスミドではなくゲノム上に存在していた。」は誤りで「薬剤耐性に関与する遺伝子はプラスミドではなくクロモゾーム上に存在していた。」と記述するのが正しいです。「クロモゾーム＝ゲノム」と勘違いしたり、「クロモゾーム」と「ゲノム」とを混同したりしないように注意が必要です。

<追加の解説：ゲノム（genome）とは、1920年頃に、それぞれの生物が調和のとれた生物学的形質を安定的に保つ上で不可欠な因子（Gen）の総体（ome）を指す概念として Winkler により提案されました。ドイツ語の Gen は生物学的形質を規定する因子の概念（現在では遺伝子）を意味する用語ですが、1920年頃はまだ DNA や染色体が遺伝情報を担うことが知られていませんでした。1944年の Avery らの実験と1952年の Hershey らの bacteriophage を用いた実験などにより DNA が遺伝情報を担う本体であることが確定され、またそれまでは機能がはっきりしていなかった染色体が DNA でできているという事実とから、genome という用語は染色体に依存して特定の生物の生物学特性（形質）を安定的に維持するすべての遺伝情報（概念）という解釈とともに、それらの遺伝情報を担う染色体（物質）の一組と拡大解釈されて用いられてきました。しかし現在では、genome とは物質である DNA から構成される染色体そのものではなく、特定の生物の染色体やプラスミドなどに暗号化されているその生物の生物学的特性を決定する遺伝情報のすべて（総体）を意味する用語として使用されています。genome という用語が一般化した後に、近年 proteome、metabolome、transcriptome など、末尾に（ome：総体を

意味する）を付加した用語が相次いで作り出されました。これらの新しい用語は、proteins や metabolites、transcripts（mRNA）などの「物質」に依拠して出現する多量かつ高次の「体系的情報」や「調和した機能」などの総体を意味する概念を示し、それらを扱う学問を proteomics とか metabolomics、transcriptomics などと呼ぶようになりました。そして、現在は（omics）という生命現象に不可欠な高次の多量な情報と機能を系統的、体系的に理解するための生命科学の新しい分野として発展しつつあります。ちなみに genomics とは1980年代より用い始められ、核酸の配列に規定される概念としての遺伝子（gene）に暗号化されている遺伝情報やそれに基づく生物の生命維持に不可欠な調和のとれた高次元の現象を系統的に扱い、理解するための新しい生命科学の一分野ということになります。＞

MEMO

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

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

第45回 薬剤耐性菌研究会 開催のご案内

第45回 薬剤耐性菌研究会を以下の日程で開催させていただきます。

第45回 薬剤耐性菌研究会は「平成28 年度 群馬大学 文部科学省特別プロジェクト事業「多剤薬剤耐性菌制御のための薬剤耐性菌研究者育成と細菌学的専門教育」」より一部支援を受け、同プロジェクトの一事業として共催されます。

本研究会はICD 協議会の教育講演会として認定されるよう現在申請中です。

参加登録と演題申し込みを開始いたします。
発表を希望される方も参加のみの方も、参加登録票に必要事項を記入の後、添付文書として事務局までメールにてお送りください。
演題名は抄録をお送り頂く際まで変更可能ですので、仮題で結構ですのでご記入ください。

参加登録の締め切り： 9月15日(木)
発表抄録原稿締め切り： 9月26日(月)

開催日時： 2016年10月21日（金）13：00から10月22日（土）12：00
場所： 広島県廿日市市宮島口西1－1－17
安芸グランドホテル
特別講演： コリスチン耐性に関する現状と将来（仮題）
Prof. Patrice Nordmann (University of Fribourg, Switzerland)

Dr. Yohei Doi (University of Pittsburgh School of Medicine, USA)
(Skype講演)
宿泊/参加費等： 17,000円（内訳：年会費 1,000円、研究会参加費 6,000円、宿泊費(1泊2食) 10,000円）
個室利用の場合には5,000円の追加が必要です。

開催当番： 菅井 基行（広島大学 院内感染症プロジェクト研究センター）
問い合わせ先： 下記事務局と同じ
薬剤耐性菌研究会 事務局： 富田治芳
（群馬大学大学院 細菌学・薬剤耐性菌実験施設：TEL 027-220-7992）
e-mail: <tanimoto@gunma-u.ac.jp>

Copyright © The Society for Bacterial Drug Resistance. All rights reserved.