

令和元年6月27日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08863

研究課題名(和文) 臨床検体由来Bacillus属分離率施設間比較による院内感染対策の指標作成

研究課題名(英文) Infection control index for preventing Bacillus cereus nosocomial outbreak

研究代表者

鈴木 里和 (Suzuki, Satowa)

国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・室長

研究者番号：30373400

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：Bacillus cereusは血流感染などの院内感染の原因菌であるが、他のBacillus属同様環境にも存在するため分離率の増減の評価が困難である。JANIS検査部門データから、Bacillus属の分離数には施設間差があり、またB. cereusは他の菌種と異なり、すべての検体において夏に増加する明確な季節性が存在することが明らかとなった。また我が国の大規模な院内感染事例では、いずれもST1420と呼ばれる特定のクローンが分離されていた。全検体からのBacillus属の分離数を継続的に監視し、特に夏季の分離率増加時には菌種同定とともに環境やリネン類の取り扱いを見直すことが有用と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Bacillus cereusによる血流感染は血液疾患などの患者では予後不良となりうるが、Bacillus属菌は環境に広く存在し、検体採取時の汚染菌でもあることからその分離率の推移は感染対策に活用されていなかった。

本研究により、検体の種類にかかわらずBacillus属菌の分離率が高いことは、院内感染としてのB. cereus血流感染集積のリスクであること、季節性を踏まえた分離数の推移を評価する必要性、Bacillus属菌分離率上昇時には菌種同定および特定クローン(ST1420)の検索も有用である可能性が示唆され、これらの知見はB. cereus院内感染の予防に資すると思われた。

研究成果の概要(英文)：Bacillus cereus is ubiquitous in environment, but several nosocomial outbreaks of B. cereus blood stream infections including fatal cases were reported in Japan. Analysis of JANIS data showed diverse isolation rate of Bacillus spp. among hospitals in Japan. Isolation rate of B. cereus had clear seasonality which peaks in summer time but not in other Bacillus spp. Increase of isolation rate of total Bacillus spp. may reflect contamination of hospital environment by B. cereus. This was supported by species identification of all Bacillus spp. isolates from clinical samples of three hospitals. Molecular analysis of B. cereus isolates from nosocomial outbreaks revealed that unique sequence type (ST) 1420 was dominant. The ST1420 belonged to the Cereus III lineage which is close to the Anthracis lineages. Species identification and molecular analysis of Bacillus spp. in case of summer increase may useful for risk assessment to prevent future nosocomial B. cereus infection.

研究分野：感染症疫学 院内感染 薬剤耐性菌

キーワード：Bacillus cereus 院内感染 Bacillus属 季節性 病院環境 MLST

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

バシラス属 (*Bacillus* spp.) は土壌などの環境に広く存在する環境細菌である。臨床現場では、血液検体などの無菌検体から分離されたとしても汚染菌として扱われることが多いが、2000年代に入り、*Bacillus cereus* による血流感染症の院内感染事例も報告され、その臨床的重要性が我が国でも認識された。

血液検体からの *Bacillus* spp. 分離数には病院環境の *Bacillus* spp. による汚染の程度、無菌操作の適切性といった感染対策の質、そして入院患者の特性が影響するため、その増減についての評価は難しく、増加時に何らかの対策を取るべき状況なのか、また、どの要因を中心に対策をとるべきなのかの判断が困難である。過去に、我が国の医療機関において 10 例以上の *B. cereus* 血流感染症の院内感染が発生し、その原因の一つとして、洗濯済みのリネン類が *B. cereus* に高度に汚染され、病院環境も汚染していたことが指摘された。これは、病院環境の汚染に伴う血液検体からの *B. cereus* 分離数増加は、必ずしも偽アウトブレイクではなく、血流感染症を発症した症例も含む、真のアウトブレイクの可能性があることが示した事例であった。*Bacillus* spp. による院内感染対策の特殊性は、リネンの管理や空調など病院環境がその対象となる点にある。また、我が国の医療機関で多く使用されている清拭タオル、いわゆる「おしぼり」の不適切な管理が原因とされたものも報告されている。対策はリネン類の高圧蒸気滅菌による芽胞も含めた *Bacillus* spp. の除去、洗濯業者と調整のうえでの洗濯槽の清掃や洗濯方法の変更、空調のフィルターの清掃などである。これらの対策は手指衛生の強化といった一般的かつ普遍的な対策と異なり、*Bacillus* spp. に特異的な対策であり、かつ、洗濯/清掃業者等も関係してくるため、その実施には多くの関係者の了承が必要となる。*Bacillus* spp. 血流感染症の集団発生や、重篤な症例が発生した場合には、院内での危機感も高まっており、カテーテル管理や手指衛生の徹底に加えて、これらの対策を実施することは関係者の了承を得やすいと思われる。一方、分離数が増加していても、発症例が無い、または、散発例のみの場合などは、カテーテル管理や手指衛生の徹底、血液検体採取方法の見直しにとどまることも多いと思われる。

しかし、*Bacillus* spp. 血流感染症の発症者数や重症化は、基礎疾患に伴う免疫不全や、血管内カテーテルの留置期間など、患者側の要因の影響が大きいと病院環境が同程度に汚染され、同じような血管内カテーテル管理や手指衛生管理を行っていたとしても血流感染症が多く発生する医療機関と発生しない医療機関に分かれる可能性があり、発症例や重症例の有無による対策の実施では手遅れとなる危険性がある。しかし、我が国において *Bacillus* spp. が一般的にどの程度臨床検体からの分離されているのかについての情報が少なく、分離率の多寡を評価する指標が存在していなかった。

2. 研究の目的

本研究では、我が国における *Bacillus* spp. の分離数に関するデータを、病床数や平均在院日数といった施設特性、*Bacillus* spp. の検体別分離数、血液検体の採取数や表皮ブドウ球菌など汚染菌の可能性が高い他の菌種の血液検体からの分離率を調整したうえで、施設間比較を行うことで、*Bacillus* spp. の一般的な分離率を導き出し、病院環境からの低減が感染対策上必要となる状況を明らかにすることを目的とした。また、データから得られた知見を確認するため、対策が必要と思われる医療機関と不要と思われる医療機関、すなわち分離率が高い医療機関と低い医療機関とで、分離される *Bacillus* spp. の菌種同定および *B. cereus* の分子疫学的検討を行う。

これにより、*Bacillus* spp. による血流感染の院内感染が発生するリスクの高い医療機関が、未然に病院環境の整備などを含めた対策に踏み切る契機を提供でき、結果として *Bacillus* spp. による血流感染症の院内感染の予防に貢献できると思われた。

3. 研究の方法

厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) 事業検査部門の 2008 年から 2014 年までのデータを用いて、日本における *Bacillus* spp. の臨床検体からの分離状況を明らかにした。JANIS データには医療機関を特定できる情報は含まれていないが、所在都道府県、病床数、平均在院日数、病床区分といった施設特性のほか、検体の種類、採取年月日、採取患者の年齢・性別、診療科、病棟、分離菌種が含まれている。ただし、*Bacillus* spp. の菌種については *Bacillus*

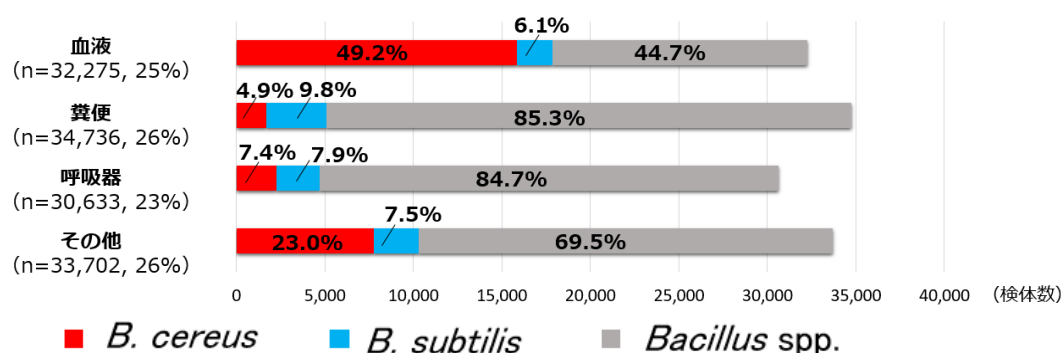
sp., *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthrax*のみ選択可能であり、菌種レベルでの同定がされなかった場合や、これら以外の菌種の場合には *Bacillus* sp.として登録されているこの JANIS データを用い、我が国における臨床検体からの *Bacillus* spp.分離状況を記述し、特に 2000 年代後半以降の年次別分離数の変化や、地域差、地域ごとの季節性の違いを確認し、特定の検体由来菌のみにこれらの傾向が見られないかを確認した。

また、過去に院内感染をおこした医療機関等に依頼し、アウトブレイク由来株の提供を受けるとともに別の 3 施設からはすべての臨床検体から分離された *Bacillus* spp.株を通年で収集し、菌種の同定および同一性について検討した。菌種の同定は MYP 培地および MALDI-TOF を用いて実施し、同一性を確認するため、パルスフィールド電気泳動法および MLST を実施した。

4. 研究成果

厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) 事業、検査部門の 2008 年~2014 年の入院患者由来検体を対象として解析を行った。*Bacillus* spp. (*Bacillus* 属菌) は 7 年間にのべ 4105 医療機関由来の 131346 検体より分離されており、検体の種類として血液、糞便、呼吸器系、その他がそれぞれ約 1/4 ずつであった。菌種は *B. cereus* が 21.0%、*B. subtilis* が 7.8% であり 71.1%では菌種同定が実施されていなかった。ただし、菌種の同定率は検体によって大きく異なり、図 1 に示すように血液検体では 55.3%が同定され、その 9 割が *B. cereus* であったが糞便や呼吸器検体では 同定率は 15%前後のみであった。JANIS 検査部門データの解析における制限として、この菌種同定報告率の低さがあり、特に血液検体分離株であってもその半数は菌種が不明であり、JANIS データのみでは *B. cereus* に対象を限定しての分離率の詳細検討は困難であると考えられた。*Bacillus* 属菌として解析した場合、我が国の医療機関における分離率は、年間 100 床あたり、0.85(四分位値 0.17-2.3)であった。また、検討を行った期間、全体としての分離率に増加または減少の傾向はみられなかった。

図 1 *Bacillus* 属菌の分離数と菌種の内訳, 2008 ~ 2014 年



Bacillus 属菌の血液検体からの分離が報告されていない医療機関が約 24%、非無菌検体からの分離が報告されていない医療機関が 38%あった。必ずしもすべての医療機関において *Bacillus* 属が血液検体より分離されてはいないことから恒常的に分離されている時点で病院環境の汚染などを検討することが有用とも考えられた。一方、非無菌検体からの分離が報告されていない背景には、分離されていても、検査システムに入力していないなどの要因が考えられ、その解釈には注意を要すると考えられた。

季節性について検討すると、*B. subtilis* はいずれの検体においても明確な季節性は認めなかったが *B. cereus* は血液、呼吸器、糞便とどの検体も夏季にピークを示した。*Bacillus* 属菌全体では、検体によって異なり、血液、呼吸器系では夏季に多いが、糞便検体ではその傾向は見られなかった。このことから血液、呼吸器検体由来の *Bacillus* 属菌では *B. cereus* の、糞便検体では *B. subtilis* の占める比率が高いことが推察された。*B. cereus* の血流感染症には夏季にピークを示す明確な季節性を認めたこと、セレウス食中毒の 9 割が夏季に発生していること、また、文献的には *B. cereus* 血流感染症の侵入門戸として腸管が主に指摘されていることから、カテーテル管理や採取時の汚染とは異なる要因の存在 (経口的な *Bacillus* 属の摂取による腸管内への定着と腸管粘膜の損傷による血流感染) も考えられた。夏季に明確なピークを示すことから、気温の影響が考えられたため、都道府県別の *B. cereus* の月別分離率を検討したが、季節性に地域差は認めなかった。

2017年から2018年度末にかけ、研究協力医療機関3施設より臨床検体から分離されるすべての *Bacillus* 属の分与を受け検討した。*Bacillus* 属における *B. cereus* は、2017年は2施設の182株中31株(17%)であったが、2018年は3施設の204株中14株(7%)と減少した。2018年は *Bacillus* 属の各医療機関での分離数も2017年に比べ約30%程度減少しており、主に5月から9月の夏季の分離数の減少によるものであった。同定菌種名を含まない *Bacillus* 属の分離数であってもその高低は *B. cereus* 分離数と相関しうる可能性があり、季節性を考慮したうえでその推移を評価し、増加時には環境やリネン類の取り扱いを見直すことが有用と考えられた。また、院内感染事例由来の菌株の分子疫学解析から、*B. cereus* による重篤な院内感染事例のほとんどが日本からの報告であり、その要因として ST1420 の関与が示唆された。ST1420 は新規に登録された ST であり炭疽菌に最も近い *Cereus* III lineage に属する。国内の大規模な院内感染事例では ST1420 を含む *B. cereus* が分離されていた。*Bacillus* 属分離数の多い施設では積極的に菌種同定を行い、*B. cereus* であればさらにその ST 型を解析することで、重篤例を含む院内感染の発生予防に寄与できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

1. Akamatsu Reiko, Suzuki Masato, Okinaka Keiji, Sasahara Teppei, Yamane Kunikazu, Suzuki Satowa, Fujikura Daisuke, Furuta Yoshikazu, Ohnishi Naomi, Esaki Minoru, Shibayama Keigo, Higashi Hideaki. Novel Sequence Type in *Bacillus cereus* Strains Associated with Nosocomial Infections and Bacteremia, Japan Emerging Infectious Diseases 2019 May;25(5):883-890.

2. Tsutsui Atsuko, Suzuki Satowa. Japan nosocomial infections surveillance (JANIS): a model of sustainable national antimicrobial resistance surveillance based on hospital diagnostic microbiology laboratories. BMC Health Serv Res. 2018 Oct 20;18(1):799

〔学会発表〕(計1件)

小林彩香、鈴木里和、島田智恵、松井珠乃、大石和徳

厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業検査部門データを用いた *Bacillus* 属の血流感染のリスク因子に関する検討第91回日本感染症学会総会・学術講演会 2017年4月東京〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等 特になし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：東 秀明

ローマ字氏名：Higashi Hideaki

所属研究機関名：北海道大学

部局名：人獣共通感染症 リサーチセンター

職名：教授

研究者番号(8桁)：20311227

(2)研究協力者

研究協力者氏名：小林彩香

ローマ字氏名：Kobayashi Ayako

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。