

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590614

研究課題名(和文)多剤耐性アシネトバクターによる院内感染の制御方法の確立

研究課題名(英文)Control of nosocomial infection with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*

研究代表者

林 俊治 (HAYASHI, Shunji)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40260765

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：多剤耐性アシネトバクター(MDRA)は多くの抗菌薬に耐性であり、本菌感染症の治療は難しい。本菌は病院環境を汚染し、院内感染を起こすことがある。我々の病院でもMDRAによる院内感染アウトブレイクが発生している。MDRAによる院内感染を制御するためには、本菌に汚染された物品を見つけることが重要である。その方法としては、病院疫学調査と細菌学的環境調査が有用である。本研究において、我々はMDRA選択培地を開発した。この培地は病院環境中のMDRA汚染を調査するのにたいへん有用である。

研究成果の概要(英文)：Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (MDRA) is resistant to many antimicrobials. It is difficult to treat MDRA infection. MDRA contaminates hospital environments, which can cause nosocomial infection. Nosocomial outbreak of MDRA infection occurred at Jichi Medical University Hospital. It is important for the control of nosocomial MDRA infection to find the articles contaminated with MDRA. A hospital epidemiological examination and a bacteriological environmental survey are utilized for finding the contaminated articles. We developed a MDRA-selective medium, which is very useful for investigating MDRA contamination of hospital environments.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学、医療社会学

キーワード：多剤耐性 アシネトバクター 院内感染 病院疫学 環境調査 選択培地

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) アシネトバクター

アシネトバクター・バウマニ (*Acinetobacter baumannii*) は、ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌であり、自然環境中に広範に存在している。その病原性は低く、健常人にはほとんど病原性を示さない。しかし、免疫抑制状態の患者には日和見感染を起こし、菌血症・肺炎・髄膜炎・尿路感染・創感染などを起こす。特に、熱傷患者、術後の患者、人工呼吸器使用中の患者、中心静脈注射使用中の患者などに強い病原性を示す。通常、グラム陰性菌は乾燥に弱く、乾燥環境中で長期間生存することができない。しかし、本菌はグラム陰性菌でありながら乾燥に強く、医療施設内の様々な設備や機器を汚染する。

### (2) 多剤耐性アシネトバクター

アシネトバクターは抗菌薬に対する感受性がもともと低い。さらに、抗菌薬に対する耐性獲得能力も高い。近年、カルバペネム・アミノグリコシド・キノロンの全てに耐性を示すアシネトバクター・バウマニが臨床検体から分離されるようになった。これが多剤耐性アシネトバクター (multi-drug-resistant *A. baumannii*; MDRA) であり、院内感染対策における大きな問題となっている。現在日本で使用可能な抗菌薬の中に MDRA に対して有効な薬は存在しない。

### (3) MDRA による院内感染

欧米では、MDRA による院内感染が 1996 年ごろより報告されてきた。さらに、日本でも 2008 年に福岡大学附属病院において、2010 年に帝京大学附属病院および藤田保健衛生大学附属病院で、MDRA による院内感染が発生している。他の細菌による院内感染に比べ、MDRA による院内感染はその制御が難しく、その有効な制御法が切望されている。

## 2. 研究の目的

### (1) MDRA による院内感染の制御法の確立

自治医科大学附属病院においても、2006 年の 12 月から MDRA が断続的に検出されるようになった。そこで、我々は同院における MDRA 院内感染の解析を行い、その発生因子を特定し、対策を講じ、その成果を検証することで、MDRA による院内感染を制御するための方法の確立を目指す。

### (2) 感染予防策の再検討

わが国において 1980 年代から 90 年代にかけて猛威を振るったメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA) の場合、医療従事者の手指を介した菌の伝播が院内感染発生における重要な因子であった。したがって、医療従事者の手指衛生の励行を中心とした接

触感染予防策が MRSA 感染の予防に有効であった。しかし、MDRA による院内感染は、本菌に汚染された設備や器具を介して菌の伝播が起こっており、従来の接触感染予防策が効果を示さないことが多い。MDRA による院内感染を制御するためには、「本菌に汚染された物品の特定およびその除去」が必要であり、そのための新たな感染予防策を作る必要がある。

### (3) 病院疫学の検討

MDRA に汚染された物品を特定するための方法として重要なのが病院疫学である。具体的には、MDRA に感染した患者の入院記録を精査し、これらの患者に共通した事項がないかを検討し、その結果から汚染物品の推定を行なう。本研究において、どのような点に留意しながら患者情報の分析を進めるべきかを明らかにする。

### (4) 環境調査方法の確立

MDRA に汚染された物品を特定するのに最も確実な方法が培養法による環境調査である。具体的には、医療施設内の様々な箇所より集めたサンプルを細菌培養用の培地に接種し、培地上に発育してきた細菌の中に MDRA が存在しているか否かを検討する。しかし、この方法では環境中の雑菌ばかりが検出され、肝心の MDRA を検出することが難しい。そこで、我々は MDRA のみが生えてくる MDRA 選択培地を開発し、環境調査におけるその有効性を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 病院疫学調査

自治医科大学附属病院において患者から初めて MDRA が分離されたのは、2006 年の 12 月である。これ以降、同病院で MDRA が分離された患者全ての入院記録を精査した。具体的には、入院病棟、原疾患、使用抗菌薬、検査、処置などを調べ、MDRA 感染患者に共通する処置がないか、共通して接触した箇所や器具がないかを検討し、MDRA に汚染された環境および物品の推測を行った。

### (2) MDRA の薬剤感受性

MDRA 分離菌株の薬剤感受性を調べるために、様々な抗菌薬 (日本で認可されていないものも含む) に対する最少発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration; MIC) を測定した。

### (3) MDRA 選択培地の開発

細菌は種によって増殖に必要な栄養素が異なる。この性質を利用し、アシネトバクターは成長できるが、他の細菌の発育は抑制されるような成分の培地を作製した、さらに、MDRA の薬剤耐性を逆に応用し、培地に抗菌薬を加えることで、MDRA のみが生えてくる

培地を作製した。

#### (4) 環境調査

自治医科大学附属病院・救急救命センターの環境および医療器具からスワブサンプルを444検体採取し、上記のMDRA選択培地に接種し、34℃で2日間培養した。培地上に生えてきたコロニーは全て自動細菌同定装置および薬剤感受性試験によって、MDRAであることを確認した。

#### (5) 分離菌株の遺伝子解析

患者および環境から分離されたMDRA菌株の遺伝子をパルスフィールド電気泳動法(PFGE)によって解析した。制限酵素はSmaIを用いた。

#### (6) 対策とその評価

病院疫学調査および環境調査の結果、救急救命センターのシャワー室で使用されていたウレタン製のマットが感染源である可能性が強く示唆された。そこで、このマットを含む汚染物品の廃棄を行った。廃棄が難しい物品についてはエタノールによる消毒を行った。さらに、この対策後のMDRA感染患者の発生状況を調査し、上記の対策の効果を検証した。

### 4. 研究成果

#### (1) 患者情報の精査

2006年の12月に最初のMDRA陽性患者が出てから2008年にかけて、毎月1~4名のペースで新規のMDRA感染患者が発生した(図1)。その多くは救急救命センターに入院している患者であった。それ以外の病棟で発生したMDRA感染患者も、その多くはなんらかの形で救急救命センターと接点を持っていた。原疾患としては、重症熱傷患者からMDRAが分離される例が比較的多かった。これらの患者は治療の過程で比較的頻回に同センターのシャワー室を使用していた。抗菌薬の使用状況に関しては、有意な情報は得られなかった。受けた検査や処置についても有意な情報は得られなかった。

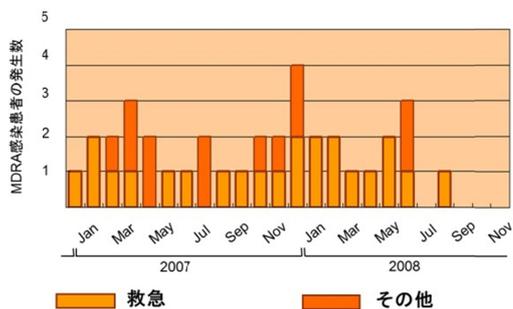


図1 MDRA感染患者の発生状況

#### (2) MDRAの薬剤感受性

患者より分離されたMDRA菌株は、検討したラクタム系抗菌薬の全てに対して耐

性を示した。カルバペネム系抗菌薬に対しても耐性を示した。キノロン系抗菌薬についても、検討した薬剤の全てに耐性を示した。アミノグリコシド系抗菌薬については、検討した薬剤のほとんどに耐性を示したが、一部の株はゲンタマイシンのみに感受性を示した。また、ポリペプチド系抗菌薬であるコリスチンに対しては、どの菌株も感受性を示した。ただし、この薬剤は日本で医療用に使用することは認可されていない。

#### (3) MDRA選択培地の開発とその評価

MDRA選択培地を作る際の基礎培地として、CRO寒天培地を採用した。この培地はクエン酸、ラフィノース、オルニチンのいずれかをエネルギー源にすることのできる細菌しか生えてこないため、極めて限られた種類の細菌しか生えてこない。その中にアシネトバクターは含まれる。アシネトバクター他には、クレブシエラが生えてくるが、アシネトバクターがピンク色のコロニーを形成するのに対し、クレブシエラは黄色いコロニーを形成するので、その鑑別は容易である。さらに、CRO培地に抗菌薬を加えることによって、MDRA選択培地を作製した。添加する抗菌薬としては、キノロン系抗菌薬のシプロキサンを使用した。

このMDRA選択培地上でMDRAは良好な生長を示した(図2左)。しかし、グラム陽性菌、ブドウ糖発酵グラム陰性菌は生えなかった。ブドウ糖非発酵グラム陰性菌は、シプロキサんに耐性の菌株は生えてきたが、感受性の菌株は生えてこなかった。薬剤感受性アシネトバクターも生えてこなかった(図2右)。ただし、培養期間を長くすると、真菌は生えてきた。



図2 MDRA選択培地 左：良好な生長を示すMDRA 右：生長できなかった通常のアシネトバクター

#### (付) MDRA選択培地の組成

リン酸2水素アンモニウム	1 g
リン酸1水素カリウム	1 g
硫酸マグネシウム・7H <sub>2</sub> O	0.2 g
塩化ナトリウム	5 g
クエン酸ナトリウム・2H <sub>2</sub> O	2 g
ラフィノース	7 g
L-オルニチン塩酸塩	10 g
フェノールレッド	0.05 g
シプロキサン	1 mg
精製水	1 L

#### (4) 環境調査による汚染源の特定

上記の MDRA 選択培地を用いて、自治医科大学附属病院・救急救命センターの環境調査を行ったところ、シャワー室で使用していたウレタン製のマットから多量の MDRA が検出された。この結果は、MDRA 陽性患者がシャワールームを高頻度で使用していたという疫学調査の結果と合致した。さらに、カーテンやキーボードなど手指が頻繁に接触する物品から MDRA が検出された。

#### (5) 分離菌株の遺伝子解析

患者および環境から分離された MDRA 菌株の遺伝子を PFGE 電気泳動法によって比較した。その結果、菌株の泳動像は A, B, C の 3 つのパターンに分けられた (図 3)。ただし、A と B のパターンは非常に類似していた。患者由来株および環境由来株のいずれにも、A, B, C の 3 つのパターンの菌株が存在していた。つまり、患者由来株も環境由来株も遺伝的に同じ集団であることが判明した。

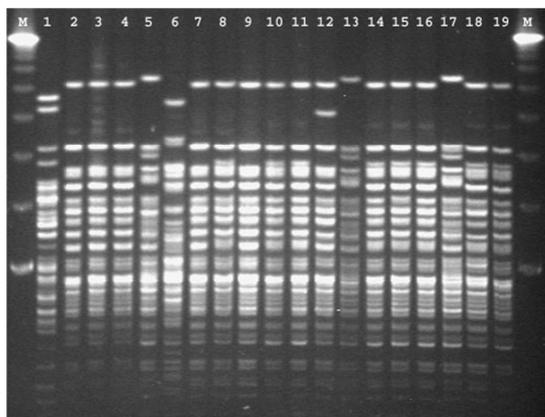


図 3 パターンAのMDRA: Lane 2, 3, 4, 7, 9  
パターンBのMDRA: 8, 10, 11, 14, 15, 16, 18, 19  
パターンCのMDRA: 5, 13, 17  
薬剤感受性アシネトバクター: 1, 6, 12

#### (6) アウトブレイクの概要

今回の MDRA によるアウトブレイクの感染源はシャワールームのウレタン製のマットであったと考えられる。この MDRA に汚染されたマットを使用することで、患者に MDRA 感染が起こっていたと推測される。また、医療従事者の手指が接触する物品から MDRA が検出されていることから、医療従事者の手指も MDRA の運び屋になっていた可能性が高い。

#### (7) 対策とその検証

感染源となっていたと思われるマットは廃棄し、シャワールームを次亜塩素酸ナトリウムで消毒した。その他の汚染物品のうち、廃棄できるものは全て廃棄した。廃棄が難しいものはエタノールで消毒した。また、救急救命センターのスタッフに対して、手指衛生に関する指導を行った。以上の対策を行った後、同センターを含む全ての病棟で、新規の MDRA 陽性患者の発生が終息した。

#### (8) 総括

MDRA による院内感染の特徴は、菌がヒトの間を行き来するのではなく、医療施設内の物品を汚染し、患者がその物品に接触することによって感染が起こる点にある。したがって、手指衛生に重点を置いた従来の感染予防策は、MDRA 感染に対しては有効な制御法とならない。

MDRA による院内感染を制御するには、本菌に汚染された物品を見つけることに重点を置くべきである。その方法としては、カルテや看護記録から得られる患者情報を統計学的に解析し、MDRA 陽性患者に共通した事項を見つける方法がある。欧米では病院疫学と呼ばれ、その専門家もいる分野であるが、日本ではこの手法に熟練した研究者はまだ少ない。したがって、この分野の専門家の育成が急がれる。

MDRA に汚染された物品を見つける方法として最も確実なのが、培養検査による環境調査である。今回のアウトブレイクでも環境調査を行うことで、感染源を特定し、アウトブレイクを制圧することに成功した。しかし、今回の環境調査で 444 箇所を調べたことからわかるように、環境調査は非常に多くの労力を必要とする方法である。したがって、上記の病院疫学による調査で、汚染の可能性のある場所や物品を十分に絞り込んだうえで、環境調査を行うことが望ましい。また、我々が開発した MDRA 選択培地は、同菌による環境汚染を調査するうえで非常に有用である。しかし、病院疫学と同様に環境調査に詳しい専門家も日本では不足している。したがって、この分野の専門家の育成も急がれる。

MDRA に汚染された物品が特定されれば、その物品を廃棄することが最も望ましい。その物品の廃棄が難しい場合は、中レベル消毒薬を用いてその物品を消毒すべきである。幸い、MDRA は消毒薬に耐性ではない。

MDRA 以外にも、医療施設内の物品を汚染することで院内感染を起こす細菌がいる。具体的には、緑膿菌、セレウス菌、レジオネラ菌、デフィシル菌などが挙げられる、さらに、これらの菌による院内感染アウトブレイクが近年相次いで報告されている。これらの菌に対しても、従来の手指衛生に重点を置いた感染予防策は、有効な制御法とならない可能性が高い。むしろ、医療施設的环境や医療器具の細菌汚染に重点を置いた新しい感染予防策の作成が必要であろう。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Hayashi S, Koibuchi H, Taniguchi N, Hirai Y. Evaluation of procedures for decontaminating ultrasound probes. J Med Ultrasonics 39: 11-14, 2012. 査読

有  
DOI10.1007/s10396-011-0332-9  
Sasahara T, Hayashi S, Morisawa Y,  
Sakihama T, Yoshimura A, Hirai Y.  
*Bacillus cereus* bacteremia outbreak  
due to contaminated hospital linens.  
Eur J Clin Microbiol Infect Dis 30:  
219-226, 2011. 査読有  
DOI 10.1007/s10096-010-1072-2  
平井義一, 笹原鉄平, 吉村章, 森澤雄司,  
下村裕史, 林俊治. 病院環境における細  
菌の生残と院内感染の発生. 化学療法  
の領域 27: 1714-1721, 2011. 査読無  
吉村章, 笹原鉄平, 林俊治. アウトブレ  
イク対策における環境汚染調査. クリ  
ンテクノロジー 21: 26-29, 2011. 査読  
無  
林俊治, 吉村章, 平井義一. 多剤耐性ア  
シネトバクター・パウマニ. カレントテ  
ラピー 29: 12-17, 2011. 査読無

〔学会発表〕(計6件)

笹原鉄平, 菅原香織, 渡邊美智代, 稲川  
秀樹, 林俊治, 森澤雄司, 平井義一. 医  
療スタッフにおける手指衛生と手指芽  
胞汚染の関係. 第 29 回日本環境感染学  
会総会・学術集会. 2014年2月14-15日,  
東京.  
横田憲治, 渡邊都貴子, 苔口進, 林俊治,  
平井義一. 病院内の環境細菌調査. 第29  
回日本環境感染学会総会・学術集会.  
2014年2月14-15日, 東京.  
稲川秀樹, 林俊治, 菅原香織, 笹原鉄平,  
森澤雄司, 平井義一. 新鮮凍結血漿  
(FFP)解凍装置の細菌汚染状況と管理方  
法の検討. 第 28 回日本環境感染学会総  
会・学術集会. 2013年3月1-2日, 横浜.  
Hayashi S, Sasahara T, Inagawa H,  
Morisawa Y, Hirai Y. Development of a  
selective medium for detection of  
multidrug resistant *Acinetobacter*  
*baumannii*. The 11<sup>th</sup> East Asian  
Conference on Infection Control and  
Prevention. November 15-16, 2012,  
Tokyo.  
Sasahara T, Hayashi S, Hosoda K,  
Inagawa H, Morisawa Y, Hirai Y.  
Bacterial growth in intravenous fluid  
products. The 11<sup>th</sup> East Asian  
Conference on Infection Control and  
Prevention. November 15-16, 2012,  
Tokyo.  
Inagawa H, Hayashi S, Sugawara K,  
Sasahara T, Morisawa Y, Hirai Y.  
Bacterial contamination of plasma  
thawing baths. The 11<sup>th</sup> East Asian  
Conference on Infection Control and  
Prevention. November 15-16, 2012,  
Tokyo.

6. 研究組織

- (1) 研究代表者  
林 俊治 (HAYASHI, Shunji)  
自治医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 4 0 2 6 0 7 6 5
- (2) 研究分担者  
森澤雄司 (MORISAWA, Yuji)  
研究者番号: 7 0 3 0 2 6 8 5
- (3) 研究分担者  
吉村章 (YOSHIMURA, Akio)  
研究者番号: 9 0 4 4 8 8 4 5  
(平成24年5月28日に辞退)