

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：34417

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15864

研究課題名(和文)救命センターにおける医療関連感染症の解明と制御(分子疫学検査を用いた多施設研究)

研究課題名(英文)Elucidation and control of nosocomial infections in the intensive care unit  
(Multicenter research using molecular epidemiology)

研究代表者

高橋 弘毅(TAKAHASHI, Hiroki)

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号：30609590

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：分子疫学検査であるPOT法を用い、3つの救命救急センターにおけるMRSA院内感染の現状を検査検証した。2019年度に各検査は実施された。各救命救急センターでのMRSAの検出件数や院内感染の状況は異なっていたが、それぞれ院内感染が存在することが証明された。医療従事者の検討では、一定定数のMRSA保菌が確認されたが、患者と共通する遺伝子型のMRSAは検出されなかった。本検討は1年間と限られた期間であり、長期的に院内のMRSAをフォローアップすることで更なる検証と今後の対策に繋げていきたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

MRSA感染は様々な感染症の中でも、医療従事者の手などを介して感染が拡大し、検出率の高いことから、院内感染対の重要な指標である。今回我々は複数の救命センターにおけるMRSA感染の現状を明らかにし、医療従事者が保菌するMRSAが院内感染に与える影響を検証した。救命センターにおいて数の違いはあるものの全てのセンターで院内感染が存在することが分かった。また、患者と医療従事者から検出されたMRSAに共通する遺伝子型は認められず、患者・医療従事者間での感染は証明できなかったが、医療従事者の保菌するMRSAが院内感染に関与していることを否定しきれない。本研究・内容は引き続き検証していく必要がある。

研究成果の概要(英文)：Using the POT method, which is a molecular epidemiological test, the current status of MRSA nosocomial infections at three critical care centers was tested and verified. Each inspection was conducted in 2019. Although the number of MRSA detections and the condition of nosocomial infections at each critical care center were different, it was proved that there were nosocomial infections. In a study by medical staff, a certain number of MRSA carriers were confirmed, but MRSA of a genotype common to patients was not detected. This study is a limited period of one year, and we would like to lead to further verification and future measures by following up MRSA in the hospital in the long term.

研究分野：救急医学

キーワード：POT法 MRSA 院内感染対策 医療関連感染症 分子疫学検査

## 1. 研究開始当初の背景

感染症の伝播は、多様化する医療現場において病院内だけでなく療養施設から在宅にまで及び全ての医療現場で発生する可能性がある。院内感染に対しては、本邦だけでなく多くの国々で対策が行われてきた。CDC (Center for disease control and prevention) の報告においては、米国での入院患者の25名に1名が院内感染に罹患し、1年間で7万人以上もの入院患者が死亡したとの報告がある (N Engl J Med 2014;370:1198-208)。集中治療室で対応する疾患は多様化、複雑化の様相を呈し、治療の成功の条件として、院内感染を未然に防ぐことが重要である。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)感染は様々な感染症の中でも、医療従事者の手などを介して感染が拡大し、検出率の高い感染であることから、院内感染対策の重要な指標の一つとされている。これまでの研究において、検出されたMRSAのうち、どの程度が院内感染なのか正確に把握できたものはない。この理由として市中型MRSAが数多く検出されており検出率が高いこと、MRSAは常在菌の1つとして保菌者が存在することが挙げられる。効率的な院内感染対策を行う上で、検出されたMRSAが、「院内伝播」なのか「持ち込み」なのかを鑑別する必要がある。その鑑別には、分子疫学検査が有用であり、パルスフィールドゲル電気泳動 (pulse field gel electrophoresis : PFGE) 法が標準法とされている。この検査は手技が煩雑であること、時間と費用がかかることから各施設で行うには困難で、専門的検査とされてきた。2006年に鈴木らによって (Suzuki et al, J Appl Microbiol. 2009;107:1367-74)、PCR based open reading typing (POT法) というPFGE法と同等の菌種識別能力に加え簡便性・迅速性を兼ね備えた分子疫学検査が開発された。安価で簡便な分子疫学検査である (POT法) を院内感染対策に加えることで、救命センターにおける院内感染の現状をより詳細に明らかにし制御できる可能性がある。報告者は、平成27年度に、若手研究Bの補助を受け『救命センターにおける分子疫学検査POT法を用いた医療関連感染症の解明と制御』と題し分子疫学検査が医療関連感染対策に有用であることを示した。本研究は、こうした前研究からの流れを引き継いだものになる。

## 2. 研究の目的

本研究は、救命センターにおける医療関連感染症の現状を明らかにし、新たな感染対策を構築することを目的とした多施設研究である。近年の感染制御の進歩にも関わらず、現状では院内で発生するMRSA感染症のうちどの程度が医療関連(院内伝播)なのか正確に把握できていない。検出されたMRSAに安価で簡便な分子疫学検査であるPOT法を用いることで、遺伝子型を比較し医療関連感染と伝播経路の同定を行なう。

## 3. 研究の方法

### 1) 患者における検討

対象：関西医科大学附属病院、関西医科大学総合医療センター、大阪府立急性期総合医療センターの各救命救急センターに入室する全患者

期間：2019年4月1日から2020年3月31日

入院時および週一回の積極的監視培養を行う。(ただし関西医科大学附属病院においては、2018年6月から臨床検査部の意向により積極的監視培養の実施中断している。)

積極的監視培養と臨床培養から検出されたMRSAに対してPOTを用いる。MRSAの遺伝子型を比較する。

同遺伝子型の場合、院内感染(可能性が高い)と判断する。

## 2) 医療従事者における検討

対象：関西医科大学附属病院、関西医科大学総合医療センター、大阪府立急性期総合医療センターの各救命救急センターに勤務する医師と看護師のうち同意が得られた医療従事者

期間：2019 年度

夏季(7-8月)と冬季(12-2月)の2回 医療従事者の鼻腔検体を採取する。

MRSA 選択培地を用い MRSA を同定する。

同定された MRSA に POT 法を実施する。

検体は無記名で回収することで、個人が同定できないものとした。

## 3) POT 法

分離同定済のMRSA単一コロニーを採取し、シカジーニアスDNA抽出試薬を用いてDNAの加抽出サンプルを作成する。遠心分離を行い、上澄みをDNA templateとしPCRを施行する。PCRの条件は94 2分Hold、30サイクル(94 30秒,52 30秒,72 1分) 72 10分holdし、その後は4 で保存とする。菌株識別に有用なOpen Reading Flameを選択し22個の増幅産物を産出する。電気泳動によって得られたNo,1~22のバンドの有無を確認することで菌株の同定を行う。電気泳動の条件は4%アガロースゲルを用い100Vで35分とする。撮影されたゲルの例を右に示す。判定方法はpositive controlのOpen Reading FlameのNo,1~22のバンドを参考に、標的バンドがある場合を「1」、ない場合を「0」の2進法で判定する。最終的には、10進数へ変換し、3桁以下の3つの値(POT1-POT2-POT3)に分けて表記する。POT法では、菌識別に有用なORFを選び、マルチプレックスPCRを用いた2回のアッセイにより22個の増幅産物の検出が可能である。検出された増幅物は3つに分類されており、割り当てられた係数から3つの数字からなるPOT型が決定される(table1)。その数字群が一致すれば、同一株(院内伝播)の可能性が高くなる。検査に要する時間は約4時間である。

## 4) 毒素産生能やPOT法以外の分子疫学検査について

研究開始当初、検出されたMRSAに対して毒素産生能、POT法以外の各分子疫学検査を行う予定であったが関西医科大学の倫理委員会の許可が降りなかったため未実施となった。

## 4. 研究成果

### 1) 関西医科大学附属病院

入院患者数 2233 名のうち MRSA 陽性者は 30 名 (1.3%) であった。その内、同じ遺伝子型を検出しなかった 22 名と、初回に同じ遺伝子型の MRSA が検出された患者 3 名を持ち込みとして除外し、5 名を院内感染と診断した (図 1)。 POT 番号を表 1 に示す。

医療従事者の検体において、1 回目は医療従事者 52 名から検体が集められ 7 名から MRSA が検出され、2 回目は 43 名から検体が集められ 3 名から MRSA が検出された (表 2)。

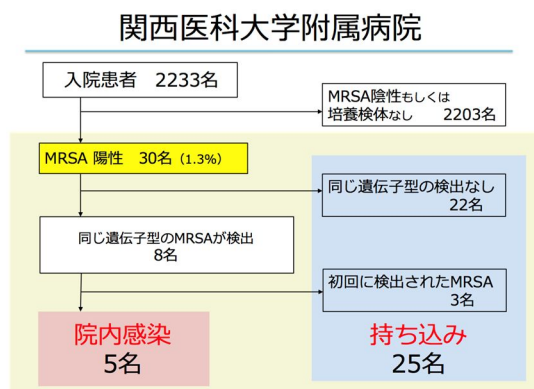


図 1 関西医科大学附属病院の患者における MRSA の検出状況

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 2) 関西医科大学総合医療センター

入院患者数 1119 名のうち MRSA 陽性者は 107 名 (9.6%) であった。その内、同じ遺伝子型を検出しなかった 55 名と、初回に同じ遺伝子型の MRSA が検出された患者 14 名を持ち込みとして除外し、38 名を院内感染と診断した (図 2)。POT 番号を表 1 に示す。

医療従事者の検体において、1 回目は 62 名から検体が集められたが MRSA は検出されず、2 回目は 63 名から検体が集められ 2 名から MRSA が検出された (表 2)。

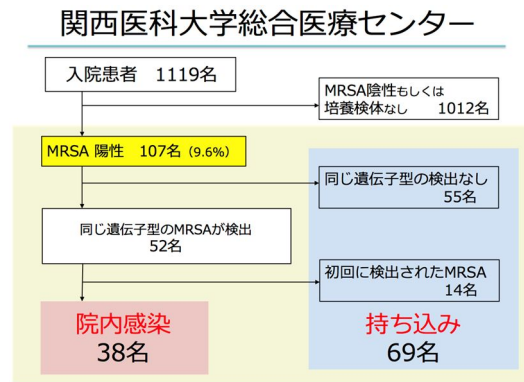


図 2 関西医科大学総合医療センターの患者における MRSA の検出状況

## 3) 大阪府立急性期総合医療センター

入院患者数 1658 名のうち MRSA 陽性者は 98 名 (5.9%) であった。その内、同じ遺伝子型を検出しなかった 47 名と、初回に同じ遺伝子型の MRSA が検出された患者 11 名を持ち込みとして除外し、40 名を院内感染と診断した (図 3)。POT 番号を表 1 に示す。

医療従事者の検体において、1 回目は 76 名から検体が集められ 4 名から MRSA が検出され、2 回目は 76 名から検体が集められ 10 名から MRSA が検出された (表 2)。

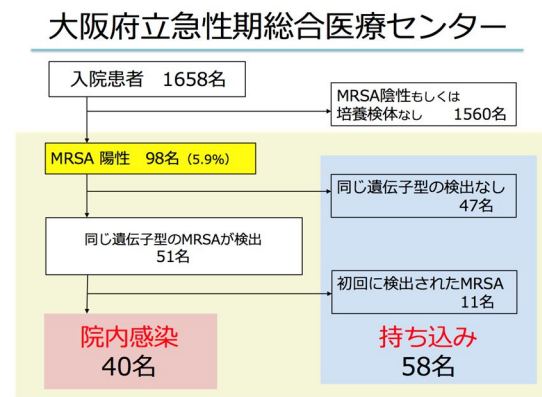


図 3 大阪府立急性期総合医療センターの患者における MRSA の検出状況

POT 番号という遺伝子型の一致という根拠をもって MRSA 院内感染を検証することができた。各救命救急センターでの MRSA の検出件数や院内感染の件数は異なっていたが、それぞれ院内感染が存在することが証明された。医療従事者の検討では、一定定数の MRSA 保菌が確認されたが、患者と共通する遺伝子型の MRSA は検出されなかった。医療従事者の保菌する MRSA による院内感染は否定できたわけではなく、今後も患者だけでなくセンター全体での感染対策が必要と考える。多数の救命救急センターとの共同研究によって更に検出数を増やすことができ、院内感染の現状を解明することができた。一方、本検討は 1 年間と限られた期間であり、長期的に院内の MRSA をフォローアップすることで更なる検証と、今後の対策に繋がっていきたい。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

表1 患者から検出された MRSA における POT 番号の集計

病院名	POT番号	検出件数
関西医科大学 附属病院	106-9-2	2
	109-137-80	2
	106-129-5	4
	その他	22
関西医科大学 総合医療セン ター	68-25-114	2
	93-146-109	2
	93-158-125	2
	93-189-125	2
	93-191-34	2
	93-191-103	2
	106-9-2	2
	106-77-113	2
	106-131-5	2
	106-247-33	3
	106-9-80	4
	106-183-37	5
	106-129-5	10
	106-137-80	12
	その他	55
	大阪府立急性 期総合医療セ ンター	93-153-29
93-219-111		2
106-137-2		2
106-247-33		2
106-9-2		3
106-77-113		3
106-183-45		3
93-217-56		4
106-9-80		4
106-183-37		8
106-137-80		18
その他	47	

表2 医療従事者から検出された MRSA にお  
ける POT 番号の集計

病院名	実施期間	POT番号	
関西医科大学附属 病院	1回目	110-152-52	
		109-139-32	
		109-137-36	
		109-25-34	
		109-11-21	
		105-179-52	
		96-18-64	
		2回目	1109-27-32
	109-9-55		
	108-8-48		
関西医科大学総合 医療センター	1回目	検出せず	
	2回目	8-19-1	
		75-18-32	
大阪府立急性期総 合医療センター	1回目	109-139-32	
		109-137-36	
		109-9-34	
		94-153-65	
		2回目	109-139-32
		109-137-36	
	109-11-34		
	109-11-34		
	109-131-4		
	109-183-21		
	109-11-2		
	72-147-0		
79-18-33			
64-2-0			

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高橋弘毅
2. 発表標題 分子疫学検査を用いたMRSA院内感染の評価と今後の課題
3. 学会等名 第45 回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高橋弘毅
2. 発表標題 救命救急センターにおけるPOT法を用いたMRSA院内感染の分子疫学解析
3. 学会等名 第45回日本集中治療学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考