

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19261

研究課題名(和文)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

研究課題名(英文) The elucidation and regulatory of nosocomial infection using a numerator loimology test (POT) in an intensive care unit.

研究代表者

高橋 弘毅 (Takahashi, Hiroki)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：30609590

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：新しい分子疫学検査であるPCR based open reading typing (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明らかにした。入院患者1015名のうち、MRSA陽性者は57名であり、POT法によって院内感染によるMRSAと推定される11菌株を同定した。医療従事者66名のうち6名からMRSAを検出し、そのうち4名から患者のMRSAの遺伝子型と一致する菌株が検出された。POT法の精度をPEGF法で確認した。今後は、対象を他の施設に広げて新たな感染対策を予定している。

研究成果の概要(英文)：We investigated a nosocomial infection in an intensive care unit by PCR based openreading typing (POT) which is a novel numerator loimology test. Among 1015 inpatients, the number of MRSA positives was 57. It was determined to be 11 strains of MRSA nosocomial infection by POT. We detected MRSA from six people among 66 health care workers, and the strains which is in agreement with the genotypic of a patient's MRSA was detected from four persons of them. The accuracy of the POT method was checked by the pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). The multicenter study is planned as a future task.

研究分野：救急医学

キーワード：医療関連感染症 MRSA 院内感染対策 分子疫学検査 POT法

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ぶ全ての医療現場で発生する可能性がある。平成 24 年度の診療報酬改正においては、感染防止対策加算が開始されており常に関心の高い分野となっている。これまでに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。

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。我々は、平成 21 年より 3 年間、基盤研究 B の補助を受け、『救命センターにおける先制攻撃的感染予防策の効果に関する研究』として、MRSA 感染対策に力を入れてきた。研究の成果として、

MRSA の院内感染に関するリスクファクター (気管挿管、開放創の存在、抗菌薬投与、ステロイド投与) を明らかにし、MRSA 感染対策を早期に開始すべき指標を提示した (Yamakawa, et al. BMC Infectious Diseases 2011, 11:303)。挿管患者に対し、集中的に接触感染予防対策を徹底することで MRSA の院内感染率を低下させることを示した (Matsushima, et al. Journal of Hospital Infection 78 2011, 97-101)。本研究は、こうした前研究からの流れを引き継いだものである。

これまでの研究においても、検出された MRSA 感染症のうち、どの程度が院内感染なのか正確には把握できていない。この理由とし

て、本邦においては市中型 MRSA が数多く検出されており検出率が高いこと、MRSA は常在菌の一つであり保菌者が存在することが挙げられる。つまり、MRSA はありふれた菌となりを把握することが難しくなっている現状がある。一方で、前述した CDC の報告があるように、本邦でも数多くの MRSA 院内感染症が存在し、病状や医療経済に大きく影響していることが懸念される。

2. 研究の目的

本研究においては、近年開発された安価で簡便な分子疫学検査である PCR based open reading typing (POT 法: 後述 1) 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。

後述 1: POT 法とは、高い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である (Suzuki, et al. J Appl Microbiol 2006;101:938-47)。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 2 2 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。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。POT 型は、3 桁以下の 3 つの値 (POT1-POT2-POT3) に分けて表記する。

3. 研究の方法

患者における検討

対象: 大阪大学医学部附属病院高度救急救命センターに入室する全患者

期間: 2015 年 2 月 1 日から 2016 年 2 月 28 日

- 入院時及び週 1 回の監視培養を行う。
- 検出された MRSA が院内感染か否か従来

法（後述2）を用い判定する。

- 従来法によって院内感染と判定された MRSA に POT 法を用いる。同定された MRSA の遺伝子型を比較する。

医療従事者における検討

対象：同救命救急センターの医療従事者（医師・看護師 66 名）

期間：2015 年 11 月から 2016 年 1 月（3 ヶ月間）

- 月一回 医療従事者の鼻腔の検体を採取する。
- MRSA 選択培地を用い MRSA を同定する。
- 同定された MRSA に POT 法を施行する。
- 検体は匿名化され個人が同定できないかたちで行った。

パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE 法：後述 3）を用いて POT 法の精度を確認した。

2015 年 11 月から 2016 年 2 月に検出された MRSA21 株と医療従事者から検出された MRSA17 株に対して PFGE 法を追加し POT 法の精度を確認した。

後述 2: 従来法とは、入院時の監視培養で MRSA 陽性となった場合は「持ち込み」と定義し、入院後 48 時間以降に検出された MRSA を「院内感染」と定義する方法である。

後述 3 : PFGE 法による結果はアルファベットにて表記され疫学的な評価として同じ株であれば同じアルファベットとなる。バンドの違いが少数であればアルファベット以下の数字が異なり、アルファベットが異なれば疫学的な関連は薄いと判断される。

4. 研究成果

入院患者数 1015 名のうち MRSA 陽性者は 57 名（5.6%）であった。従来法による判定を用いたところ、57 名中 35 名が「持ち込み」と診断され、57 名中 22 名が「院内感染」と診断された。「持ち込み」の 35 名のうち 5 名から POT 番号の重複する MRSA が検出された。「院内感染」の 22 名のうち 11 名から POT 番号の重複する MRSA が検出された。院内感染の残りの 11 名からは番号の一致しないそれぞれ異なる番号が検出された(図 1)

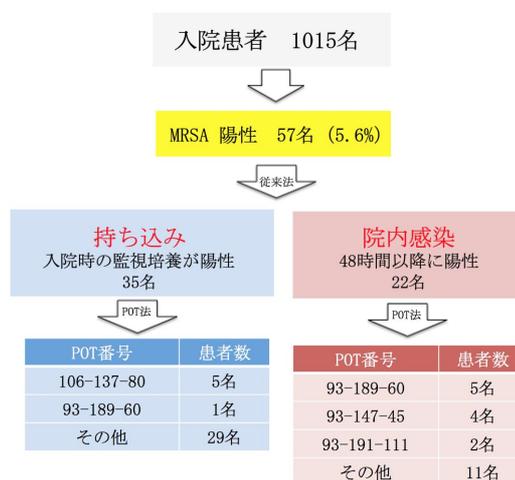


図 1 患者における従来法と POT 法の結果

医療従事者の保菌率は 9.7%(6/62 名)であった。医療従事者 4 名が患者の MRSA の遺伝子型と一致する菌株を保有していた（表 1.2）。3 ヶ月の期間中に新たに MRSA を保菌した医療従事者はいなかった。

表 1 医療従事者の検体提出状況と陽性者数

	11月	12月	1月
提出者数	62名	55名	52名
陽性者数	6名	6名	5名

(医療従事者 66 名中)

表2 POT法とPFGE法の比較

	検出日	POT法	PFGE法
患者1	2015/10/5	106-25-112	G5
患者2	2015/10/21	4-27-88	R
患者3	2015/11/4	106-137-80	G9
患者4	2015/11/20	106-153-125	K
患者5	2015/12/8	106-137-80	G4
患者6	2015/12/10	106-9-2	H1
患者7	2015/12/20	93-147-45	A1
患者8	2015/12/20	4-186-112	D
患者9	2015/12/24	93-147-45	A1
患者10	2016/1/4	106-137-82	G7
患者11	2016/1/7	95-153-120	E
患者12	2016/1/8	106-137-80	G1
患者13	2016/1/14	70-18-81	Q
患者14	2016/1/21	2-1-0	N
患者15	2016/1/25	93-147-45	A1
患者16	2016/1/27	106-143-96	G6
患者17	2016/2/11	82-1-0	P
患者18	2016/2/15	93-190-103	B1
患者19	2016/2/17	93-147-45	A1
患者20	2016/2/18	93-189-60	B1
患者21	2016/2/25	106-137-80	G2
医療従事者1	11月	93-221-111	B2
医療従事者2	11月	93-189-60	C
医療従事者3	11月	93-147-45	A1
医療従事者4	11月	106-137-80	G1
医療従事者5	11月	93-189-60	C
医療従事者6	11月	93-189-60	C
医療従事者1	12月	93-221-42	B6
医療従事者2	12月	104-72-66	O
医療従事者3	12月	93-147-45	A1
医療従事者4	12月	106-139-80	G1
医療従事者5	12月	93-189-20	C
医療従事者6	12月	93-189-60	C
医療従事者1	1月	125-221-111	B2
医療従事者2	1月	104-73-66	O
医療従事者3	1月	93-147-45	A1
医療従事者4	1月	106-137-80	G1
医療従事者5	1月	93-189-60	C

POT 番号の一致という根拠をもって院内感染の発生を明らかにすることができた。POT法の結果を共有することで、接触感染予防の意識向上に繋がる可能性がある。安価で簡便な分子疫学検査である POT 法を用いることで、院内感染に関与する MRSA の遺伝子型を比較することができる。これにより院内感染の発生をより正確に把握でき、伝播経路の推定を行うことができたと考えられた。医療従事者の検討では、院内感染に医療従事者の保菌する MRSA が関与している可能性が疑われる結果であった。医療従事者を含めたセンター全体での感染対策が必要と考える。今回の研究は、MRSA を保菌する医療従事者を特定できないかたちで行われているため、鼻腔の除菌などの介入は行うことができていない。MRSA を保菌する医療従事者に除菌や職場への立ち入り制限を行うことは推奨されていないものの、今後どのように介入

していくかは大きな検討課題の一つである。また、当院だけでは MRSA の検出数も限られており、限られた条件下であることから今後、他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し、院内感染の現状を解明し制御していきたい。

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)

[学会発表](計3件)

高橋弘毅 他 分子疫学検査 (POT 法) を用いた新たな院内感染対策 第 43 回日本救急医学会総会 2015 年 10 月 21 日 東京

高橋弘毅 他 積極的監視培養と POT 法を用いた MRSA 院内感染対策 第 90 回日本感染症学会 2016 年 4 月 16 日 仙台

高橋弘毅 他 分子疫学検査を用いた新たな MRSA 感染対策 第 44 回日本救急医学会総会 2016 年 11 月 17 日 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 弘毅 (Takahashi Hiroki)

大阪大学医学部附属病院 医院

研究者番号: 30609590