

A病院B病棟より検出されたメチシリン耐性

Staphylococcus aureus のファージ型別

—疫学的検索へのアプローチ—

小穴こず枝¹⁾, 赤羽貴行²⁾, 畑 敦子³⁾

丸山有里⁴⁾, 高橋宏子⁵⁾, 山田喜紹⁶⁾

Phage-typing of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from Ward B of Hospital A

—An approach to epidemiological investigation of the spread of contamination—

Nosocomial infections due to Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) have become prevalent in recent years. The epidemiological investigation is now urgently needed for the prevention. In order to survey thoroughly the spread of contamination with MRSA in Ward B of Hospital A, we isolated from environments of the ward a number of strains of MRSA and classified the isolates by phage-typing. Isolations of the strains were performed three times before and after disinfection of the patient's rooms in the ward with gaseous formaldehyde.

The results of phage-typing of the MRSA strains presented us interesting informations. Some of the strains detected throughout the investigation have been proved to belong to the identical phage-type that was at first found from a localized environment of an asymptomatic carrier. Spread of this type of strains was considered to be mostly mediated by the contaminated maniplalanxes, shoes and other items of the carrier. So the contamination could be said to proceed from other patients and medical staffs including physicians and nurses who acquired the bacterium.

These valuable informations obtained by phage-typing, we believe, help prevent

- 1) 信州大学医療技術短期大学部衛生技術学科; Kozue Oana, Dept. Medical Technology, Sch. Allied Med. Sci., Shinshu Univ.
- 2) 厚生連松代総合病院臨床検査科; Takayuki Akahane, Clinical Laboratory, Koseiren Matsushiro General Hospital.
- 3) 協和醸酵工業医薬研究所; Atsuko Hata, Pharmaceutical Research Laboratory, Kyowa Hakko Kogyo.
- 4) 近畿予防医学研究所; Yuri Maruyama, Kinki Preventive Medical Laboratory.
- 5) 信州大学医学部第一内科学教室; Hiroko Takahashi, First Department of Internal Medicine, School of Medicine, Shinshu Univ.
- 6) 信州大学医療技術短期大学部看護学科; Yoshitsugu Yamada, Dept. Nursing, Sch. Allied Med. Sci., Shinshu Univ.

nosocomial infections due to MRSA, since they clarify detailed mode of distributions of the micro organism in the hospital environments.

Key words: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), nosocomial infection, phage-typing

キーワード：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌，院内感染，ファージ型別

はじめに

近年，メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) を原因菌とする感染症が大きな問題となっている。MRSA はペニシリナーゼ抵抗性合成ペニシリンであるメチシリンに耐性であるばかりではなく，他のペニシリン系薬剤やセファゾリンなどの第一世代セフェム系薬剤にも耐性を示し，同時にマクロライド系，アミノ配糖体系およびテトラサイクリン系薬剤などに耐性の多剤耐性菌である。その耐性機構は， β -ラクタム系薬剤に対して親和性の低い特有のペニシリン結合蛋白(PBP2')が β -ラクタム系薬剤によって誘導産生されることが主因であるとされている^{1),2)}。有効な化学療法剤が少なく，元来の強毒菌でもあることから，MRSA 感染症の治療は大変困難となる。また，院内感染症^{3)~9)}としても，その予防対策に苦慮することが多い。予防対策のひとつとして，MRSA の検出状況を把握し^{10),11)}，薬剤感受性¹²⁾，コアグララーゼ型別¹³⁾，ファージ型別^{14),15)}，トキシン産生能¹⁶⁾あるいはプラスミド DNA パターン解析^{17),18)}等による疫学的方法での検索が重要となる。

A病院では，1989年当時，MRSA に対する感染予防対策のひとつとして，消毒剤による床拭きが毎日行われていた。使用される消毒剤は数カ月毎に種類を変え，耐性をつくらないよう工夫がされていた。また，ホルマリンによる病室内の消毒も行われていた。ホルマリ

ン消毒は，入室患者が他室へ移動してから，24時間以上密封消毒する。この方法で順次行われ，3~4日間で病棟全室の消毒が終了する。MRSA 保菌者は感染症扱いとし，同室者，医療スタッフ，付き添い者も含め，うがい，手洗いを徹底し行った。このような状況下においても，病室から MRSA が検出されていた。そこで，B病棟の環境における MRSA の汚染状況を知ることを目的として，ホルマリン消毒前後について調査を実施し，検出された MRSA についてファージ型別による疫学的検索を行った。

方 法

1 採取場所

A病院B病棟を対象とした。図1にB病棟の見取り図を示した。

(1) 病室

大部屋1~5号室の入口の床及び中央の床，水道取手及び流しの下の床，各ベットの柵，シーツ，患者スリッパ，カーテン，ブラインド及び紐，配張棚等より採取した。個室1~2号室からは入口の床，水道取手，ベットの柵及びベットサイドの床，換気扇，天井，ドアノブ，ナースコール，酸素マスク等より採取した。

(2) 廊下

消毒剤による床清掃終了後に採取した。各部屋入口の床，病棟入口カーペット，手すり等より採取した。

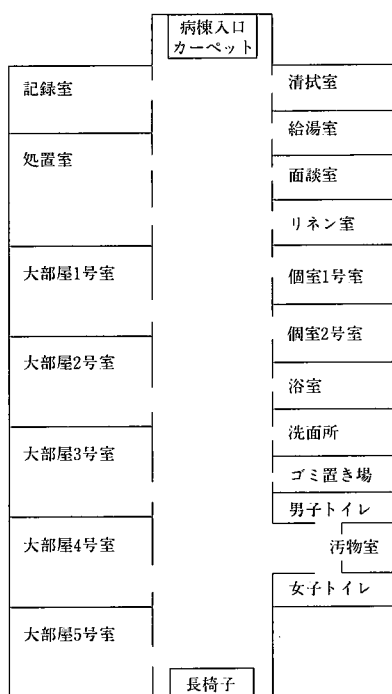


図1 B病棟見取り図

(3) トイレ・汚物室

トイレ及び汚物室の出入口の床、水道取手、便座、スリッパ、蓄尿袋の蓋及びその下の床、アコーディオンカーテン、換気扇等より採取した。蓄尿袋の設置されている汚物室は通常のスリッパ、靴等で出入りが行われていた。トイレの床の清掃は、水によるモップ掛けが行われており、第1回目の採取以後は、便座と水道取手のアルコール拭きが行われた。

(4) 処置室

診察台、診察台を囲むカーテン、流し台前面及び前の床、冷蔵庫・保冷庫の取手、加湿器、戸棚、電話受話器、換気扇、処置室中央の床等より採取した。

(5) その他の部屋等

記録室の床・ドアノブ・電話受話器・机の上・換気扇・水道取手、清拭室・面談室・リネン室の床及びドアノブ、浴室の換気扇、使

用済みシート、モップ等より採取した。

(6) 看護婦・採取者の靴

看護婦・採取者の靴より採取した。

2 採取時

(1) 第1回目

ホルマリンによる室内消毒1週間前にB病棟全域より採取した。この時、大部屋1号室にはMRSA保菌者C氏(男性、尿から分離)がいたが採取翌日に退院した。また、大部屋3号室4ベットにはMRSA保菌者D氏(男性、ドレーン排液から分離)がいた。

(2) 第2回目

ホルマリン消毒3日後の大部屋2・4号室、個室1号室及び採取者の靴より採取した。MRSA保菌者D氏は大部屋2号室1ベットに転室となっていた。

(3) 第3回目

B病棟全室のホルマリン消毒が終了してから7~10日後に第1回目と同様な箇所より採取した。

3 採取方法および分離菌株の同定

滅菌生理食塩水で湿らせた滅菌スワブを用いて、目的とする物の表面の一定面積(直径9cmの円内)をよく拭き取った。これをエッグ・ヨークーS培地(CEZ 25 μ g/ml入、栄研)に塗布し、37 $^{\circ}$ C72時間培養後、コロニー数を測定した。各コロニーを純培養後、グラム染色を行い、更に、感受性ディスク法(昭和薬品)によりメチシリン(DMPPC)に対するMIC値が12.5 μ g/ml以上の値を示したものをMRSAとした。

4 ファージ型別^{14),15)}

ファージ型別用ファージ液は、本邦におけるリファレンスセンターである群馬大学医学部附属薬剤耐性菌実験施設より分与を受け、-80 $^{\circ}$ Cに保存しておいたものを使用した。標準ファージ・セットの内訳は、I群が5種

類(29, 52, 52A, 79, 80), II群が4種類(3A, 3C, 55, 71), III群が10種類(6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 84, 85), 雑群が4種類(81, 94, 95, 96)の計23種類である。ファージ型別に際しては、それぞれのファージ液についてあらかじめ力価を測定した。Ca²⁺イオン(2.5~10 mmol/l)を含む普通寒天培地(50℃, 30分乾燥)に指示菌(トリプトソイブイオンで37℃一夜培養)を塗り、それぞれの対応する指示菌の上にトリプトソイブイオンにて10倍段階希釈したファージ液をエーゼで5 μlずつ置き、30℃一夜培養後、判定した。完全に溶菌している最高希釈の濃度を求め、これを1 RTD (Routin Test Dilution)とした。被検菌のファージ型別は、トリプトソイブイオンで一夜培養した被検菌液約1 mlをCa²⁺イオン(2.5~10 mmol/l)を含む普通寒天培地(50℃, 30分乾燥)に入れ、シャーレ全面に広げ余分な菌液を除き、自然

乾燥後、それぞれのファージ力価を1 RTDに希釈したファージ液を5 μlずつ滴下し、30℃で一夜培養後、溶菌状態を判定した。完全溶菌を(+++), 溶菌斑(プラーク)が50以上を(++), 20~49を(+), 1~19を(±)とし、(+)以上を溶菌とした。1 RTDでは型別不能株が多かったため、更に×100 RTDのファージ液についても同様にファージ型別を行い、今回の調査には全ての株について×100 RTDでの結果により型別した。

結 果

1 各採取場所における MRSA 検出状況

第1~3回目の総計434カ所からの採取により、63カ所(14.5%)から292株のMRSAが検出された。MRSAの検出箇所数と検出率を表1に示した。

ホルマリン消毒前の第1回目は、192カ所の採取の内23カ所(12.0%)からMRSAが検出

表1 B病棟における採取箇所数及びMRSA検出状況

	第1回			第2回			第3回			計		
	採取箇所数	MRSA検出箇所数	検出率(%)	採取箇所数	MRSA検出箇所数	検出率(%)	採取箇所数	MRSA検出箇所数	検出率(%)	採取箇所数	MRSA検出箇所数	検出率(%)
大部屋	100	7	7.0	40	4	10.0	100	15	15.0	240	26	10.8
個室	16	0	0	3	1	33.3	16	1	6.3	35	2	5.7
廊下	20	2	10.0				20	6	30.0	40	8	20.0
トイレ・汚物室	21	10	47.6				21	2	9.5	42	12	28.6
処置室	20	2	10.0				20	2	10.0	40	4	10.0
その他の部屋等	12	0	0				12	3	25.0	24	3	12.5
看護婦・採取者の靴	3	2	66.7	4	0	0	6	6	100.0	13	8	61.5
計	192	23	12.0	47	5	10.6	195	35	17.9	434	63	14.5

表2 保菌者のいる病室と非保菌者の病室からの検出状況

	第1回			第2回			第3回			計		
	採取箇所数	MRSA検出箇所数	検出率(%)	採取箇所数	MRSA検出箇所数	検出率(%)	採取箇所数	MRSA検出箇所数	検出率(%)	採取箇所数	MRSA検出箇所数	検出率(%)
保菌者のいる病室	40	3	7.5	20	4	20.0	20	6	30.0	80	13	16.3
非保菌者の病室	60	4	6.7	20	0	0	80	9	11.3	160	13	8.1
計	100	7	7.0	40	4	10.0	100	15	15.0	240	26	10.8

された。特に、トイレ・汚物室と看護婦・採取者の靴からの検出が多かった。トイレ・汚物室は、採取場所21カ所の内、10カ所より検出され、47.6%と高い検出率であった。この内、8カ所は床とスリッパからであった。残りは、男子トイレの水道取手と女子便座からであった。看護婦・採取者の靴は3名からの採取であったが、2名(66.7%)から検出され、高い検出率であった。病室は100カ所の採取の内、7カ所(7.0%)から検出された。その内、3カ所は保菌者D氏のベット柵、D氏のいた部屋の水道下の床、ブラインドの紐からであるが、その他の4カ所は非保菌者のみの病室の水道下の床、シーツ、患者スリッパ、床からであった。この時、個室からは全く検出されなかった。廊下は、病棟入口カーペットと手すりの2カ所(10%)より検出された。処置室は、診察台の上と診察台を囲むカーテンの2カ所からの検出であった。第1回目の採取では、各採取場所におけるMRSA検出数に危険率1%において有意の差が認められた。

第2回目のホルマリン消毒済みの大部屋2部屋、個室1部屋及び採取者の靴よりの採取は、47カ所の内5カ所(10.6%)から検出された。病室は、大部屋では、保菌者D氏のいる部屋に限り、D氏のベット柵及びスリッパ、同室患者のスリッパ2カ所の計4カ所(10%)より検出され、保菌者のいない大部屋からは検出されなかった。また、個室はホルマリン消毒後、患者入室前の部屋であったが、水道取手の1カ所から検出された。

消毒7~10日後の第3回目採取では、195カ所の内35カ所(17.9%)からMRSAが検出され、3回の調査の中で最も高い検出率であった。特に看護婦・採取者の靴からは6名の採取に対して、全員(100%)から検出され、第

1回目と第3回目とでは危険率5%で有意の差が認められた。廊下からの検出率も第1回目に比べ上昇し、20カ所の内、6カ所(30%)より検出された。第1回目に検出された病棟入口カーペットと手すりの2カ所から再び検出され、それ以外に、処置室、ゴミ置き場、浴室及び面談室の前の床4カ所より検出された。大部屋は100カ所の内、15カ所(15%)より検出され、第1、2回目より増加した。保菌者D氏のベット柵及びスリッパの2カ所、D氏と同室の患者のシーツ、スリッパから4カ所検出されたが、残り9カ所は、非保菌者のみの病室のスリッパからの検出であった。個室の1カ所からの検出は非保菌者のベット柵であった。トイレ・汚物室は、汚物室の床と女子トイレのスリッパの2カ所からの検出のみで、第1回目に比べ減少し、第1回目と第3回目とではMRSA検出をみると、危険率5%で有意の差が認められた。処置室は、第1回目の検出箇所からは検出されなかったが、流し台前と記録室への入口の床の2カ所(10.0%)から検出された。その他の部屋は、清拭室の床から検出されただけであった。他に使用済みシーツ入れ、モップより検出された。第3回目では、各採取場所におけるMRSA検出数に危険率1%において有意の差が認められた。B病棟での調査時にMRSA保菌者C、D氏が入院中であったが、保菌者のいる大部屋と非保菌者のみの大部屋からのMRSAの検出状況を比べてみる(表2)と、第2回目と第3回目の採取時には、危険率5%において有意差が認められた。第1回目については有意差は認められなかった。

2 各採取場所より検出されたMRSAのファージ型別

MRSAが検出された63カ所から分離されたコロニー292株のファージ型別を表3、検出

表3 各採取箇所より検出されたMRSAのファージ型別パターン(その1)

ファージ型別	I II III 雑	II III 雑	III 雑	II 雑	雑	I II III 雑	II III	III	I III 雑	型別不能	計	
ファージパターン	①80/3A,3C/6,42E,47,54,75/81,94 ②80/3A,3C/6,42E,47,53,54,75/81,94 ③80/3A,3C/6,42E,47,54,75,77/81,94 ④80/3A,3C/6,42E,47,54,75,85/81,94 ⑤80/3A,3C/6,42E,47,53,54,75,77/81,94 ⑥80/3A,3C/6,42E,47,53,54,75,85/81,94 ⑦80/3A,3C/6,42E,47,54,75/81 ⑧80/3A,3C/6,42E,47,53,54,75/81	3C/54/94	①54/94 ② 47,54/ 94	3C/94	94	29/55/ 54/95	55/54	54	29,52/ 83A/ 95,96			
第1回	【大部屋】 2号水道下の床 シューズ4bed スリッパ2bed 3号水道下の床 ベッド棚4bed(D) ブラインド紐 5号床中央	①②	①①								1 1 18 1 6 3 1	1 1 18 1 9 3 1
小計	2(1)	0	1(1)	0	21(4)	0	0	0	0	10(3)	34(7)	
【廊下】 病棟入口カーペット 大部屋1~2号手すり					3					3 1	6 1	
小計	0	0	0	0	3(1)	0	0	0	0	4(2)	7(2)	
【トイレ・汚物室】 出入口床 男子 出入口床 汚物室 出入口 女子 水道取手 男子 便座女子1 男性尿器前床1 2 スリッパ 男子 スリッパ 女子 蓄尿袋下の床					1 4 1 1 2	23	1	1		1 1 1 1 2 2 10 2	1 1 4 1 3 2 11 2	
小計	0	0	0	0	8(4)	23(1)	1(1)	1(1)	1(1)	21(7)	55(10)	
【処置室】 診察台カーテン 診察台上			②①							1 5	2 5	
小計	0	0	1(1)	0	0	0	0	0	0	6(2)	7(2)	
【看護婦・採取者の靴】 採取者靴 看護婦靴			①①							9 9	9 10	
小計	0	0	1(1)	0	0	0	0	0	0	18(2)	19(2)	
合計	2(1)	0	3(3)	0	32(9)	23(1)	1(1)	1(1)	1(1)	59(16)	122(23)	
第2回	【大部屋】 2号ベッド棚1bed(D) スリッパ1bed(D) スリッパ2bed(D) スリッパ3bed	①① ①① ①③) 5 ②① ⑤①								1 3 1 2	1 4 1 7	
小計	7(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	6(3)	13(4)	
【個室】 1号水道取手										34	34	
小計	0	0	0	0	0	0	0	0	0	34(1)	34(1)	
合計	7(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	40(4)	47(5)	

()内: 検出箇所数

縦欄の「計」以外の「小計」「合計」「総合計」は検出箇所の延数を示す。

箇所を図2に示した。

同一のファージ型であっても溶菌パターンをみると様々であった。I・II・III・雑群の混合群は、29/55/54/95に溶菌を示すものと、80/3A,3C/6,42E,47,53,54,75,77,85/81,94

に類似の溶菌パターンを示すものの2種に大別された。さらに、80/3A,3C/6,42E,47,53,54,75,77,85/81,94に類似のパターンは8種類あった。表3は類似の溶菌パターンを主にファージ型を並べてある。

表3 各採取箇所より検出されたMRSAのファージ型別パターン(その2)

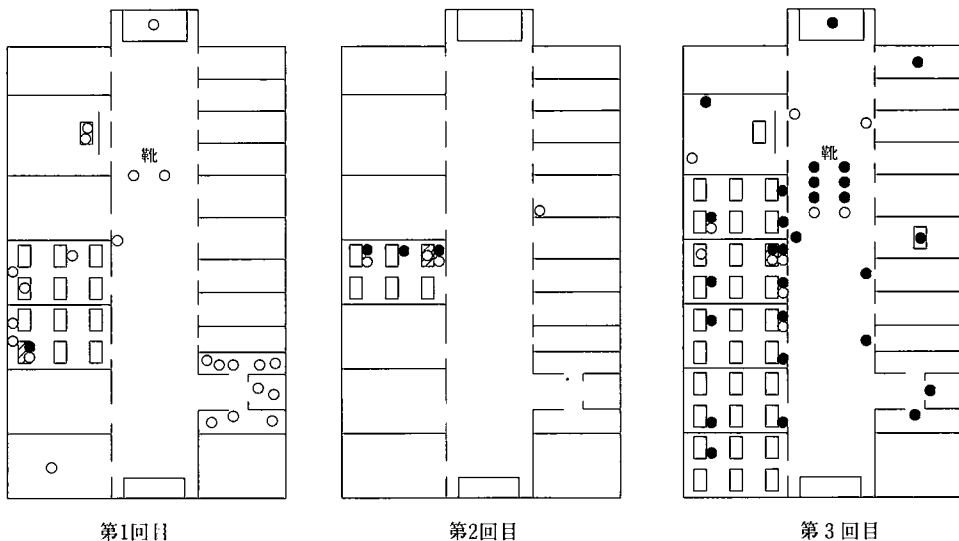
ファージ型別	I II III 雑	II III 雑	III 雑	II 雑	雑	I II III 雑	II III	III	I III 雑	型別不能	計
ファージパターン	①80/3A, 3C/6, 42E, 47, 54, 75/81, 94 ②80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75/81, 94 ③80/3A, 3C/6, 42E, 47, 54, 75, 77/81, 94 ④80/3A, 3C/6, 42E, 47, 54, 75, 85/81, 94 ⑤80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77/81, 94 ⑥80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 85/81, 94 ⑦80/3A, 3C/6, 42E, 47, 54, 75/81 ⑧80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75/81	3C/54/94	①54/94 ② 47, 54/ 94	3C/94	94	29/55/ 54/95	55/54	54	29, 52/ 83 A / 95, 96		
第3回	[大部屋] 1号スリッパ1bed スリッパ4bed スリッパ6bed 2号ベット棚1bed(D) シーツ3bed スリッパ1bed(D) スリッパ4bed スリッパ6bed スリッパ6bed 付添 3号スリッパ1bed スリッパ3bed スリッパ6bed 4号スリッパ4bed スリッパ6bed 5号スリッパ3bed		①1								6 6 1 1 5 1 1 4 5 2 2 4 1 10 10 2 3 1 3
小計	40(14)	0	1(1)	0	0	0	0	0	0	19(6)	60(15)
[個室] 2号ベット棚	①1										1
小計	1(1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1(1)
[廊下] 処置室入口前 ゴミ置き場前 浴室入口前 面談室入口前 病棟入口カーペット 大部屋1-2号手すり	①6 } 10 ②1 } ③3 } ④1				1						8 10 1 5 1 2
小計	14(4)	1(1)	0	1(1)	4(2)	0	0	0	0	7(1)	27(6)
[トイレ・汚物室] 出入口床汚物室 スリッパ女子	①2 } 4 ②1 } ③1 } ④1										4 1
小計	5(2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5(2)
[処置室] 流台前床 記録室入口床	①1										1 1
小計	1(1)	0	0	0	0	0	0	0	0	1(1)	2(2)
[その他の部屋等] 使用済シーツ入 モップ 清拭室内床	①1 ②1 ③1										1 1 1
小計	3(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3(3)
[看護婦・採取者の靴] 採取者靴1 採取者靴2 採取者靴3 看護婦靴1 看護婦靴2 看護婦靴3	①3 } 5 ②2 } ①2 } 3 ⑦1 } ①4 } 6 ②1 } ③1 } ①2 ③1 ②1 } 2 ③1 }										5 3 10 2 1 4
小計	19(6)	0	0	0	0	0	0	0	0	6(2)	25(6)
合計	83(31)	1(1)	1(1)	1(1)	4(2)	0	0	0	0	33(10)	123(35)
総合計	92(35)	1(1)	4(4)	1(1)	36(11)	23(1)	1(1)	1(1)	1(1)	132(30)	292(63)

1カ所から検出されたコロニー数が1株の所は24カ所(38.7%), 2~10株が34カ所(54.8%), それ以上が4カ所(6.5%)で、最高は1カ所より34株であった。また、同一箇所から分離されたMRSAであっても、ファージ型をみると2種類以上の異なるファージ型が混在している箇所が19カ所(30.2%)あったが、その内、17カ所は一方のファージ型は型別不能と判定された株であり、その他は、ファージ型は違っていても類似のファージパターンを示していた。

第1回目の病室についてみると、検出された7カ所(34株)の内、保菌者D氏のベット柵及び同室から検出された3カ所(13株)は、型別不能3カ所(10株)、I・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 54, 75/81, 94)が1カ所(2株)及びIII・雑群の混合群が1カ所(1株)であったが、非保菌者のみの他

室のMRSA 4カ所(21株)は全て雑群であった。廊下は、型別不能2カ所(4株)と雑群1カ所(3株)であった。トイレ・汚物室からの10カ所(55株)のMRSAは、廊下と同様に型別不能が7カ所(21株)と多く、次いで雑群が4カ所(8株)であった。この時、男性尿器前の床の1カ所から、他の採取時及び採取箇所からは全く検出されなかったI・II・III・雑群の混合群(29/55/54/95)23株、II・III群1株、III群1株が検出された。女子トイレスリッパからも他ではみられないI・III・雑群の混合群が1株検出された。処置室、看護婦・採取者の靴からのMRSAは、型別不能菌が多かったが、その他にIII・雑群もみられた。

第2回目の病室では、保菌者D氏のベット柵、スリッパ及び同室から4カ所(13株)検出されたが、I・II・III・雑群の混合群(80/



- I・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)のMRSA
- その他のファージ型のMRSA
- ▣ 患者D氏

図2 MRSAの検出箇所

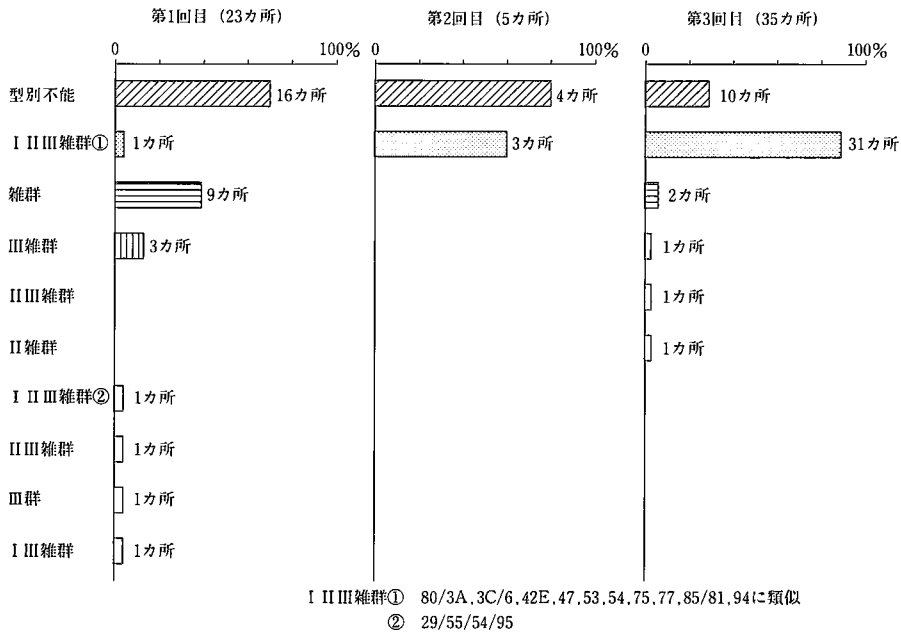


図3 第1～3回目別にみた各ファージ型別の検出状況

3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似) 3カ所(7株)と、型別不能3カ所(6株)の2種類のみであった。個室は患者入室前であったが、水道取手から34株の菌が分離されたが、全て型別不能であった。

第3回目は35カ所(123株)が検出され、病室では、1株がIII・雑群の混合群であったが、その他は保菌者のいる大部屋も非保菌者のみの大部屋もI・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)14カ所(40株)と型別不能6カ所(19株)であり、個室からの1株もI・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)であった。第2回目と同様に、第1回目に検出された雑群は1株もみられなかった。廊下は6カ所(27株)検出され、第1回目には見られなかったI・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)

が4カ所(14株)検出され、また、病室では2回目以降みられなくなった雑群が、2カ所(4株)検出された。トイレ・汚物室は、検出箇所数が2カ所に減少し、第1回目にみられた雑群や、トイレのみに特有なI・II・III・雑群の混合群(29/55/54/95)、II・III群、III群及びI・III・雑群の混合群は出現せず、全てI・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)5株であった。その他の使用済シーツ入れ、モップ等からのMRSAも、いずれもI・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)であった。調査した全員から検出された看護婦・採取者の靴では、I・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)6カ所(19株)と型別不能2カ所(6株)であった。

以上、第1回目から3回目までに検出されたMRSAのファージ型を比べてみると、各

採取時により検出されたMRSAのファージ型の分布に違いがみられた。図3は検出された箇所数の%でファージ型を示した。第1回目(計23カ所, 122株)は、型別不能が16カ所(69.6%, 59株)で半数以上を占め、次いで雑群が9カ所(39.1%, 32株)、III・雑群が3カ所(13.3%, 3株)検出された。I・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)は1カ所(4.3%, 2株)だけであった。第2回目(計5カ所, 47株)は、型別不能が4カ所(80.0%, 40株)と、I・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)が3カ所(60.0%, 7株)であった。第3回目(計35カ所, 123株)は、I・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)が31カ所(88.6%, 83株)と最も多く、次いで型別不能が10カ所(28.6%, 33株)、雑群が2カ所(5.7%, 4株)であった。

第1回目から第3回目までの総計292株についてみると(表3)、型別不能と判定された株は132株(45.2%)で最も多く、次いで、I・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)が92株(31.5%)であるが、採取箇所数をみると、I・II・III・雑群の混合群(80/3A, 3C/6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 85/81, 94に類似)が35カ所(55.6%)で最も多く、次いで型別不能が30カ所(47.6%)であった。その他は、雑群が11カ所(13.2%)、III・雑群の混合群が4カ所(6.3%)であった。

考 察

MRSAが1961年に最初に報告¹⁹⁾されて以来、欧米では本菌による感染症が注目されていた²⁰⁾。わが国においては、1980年代になり第

二世及び三世セフェム系薬剤が汎用されるようになり、1982年頃からMRSAの報告がみられる。渡辺ら³⁾は1981年1月からの1年間に51件のMRSAを分離し、本間ら⁴⁾は1981年9月以来MRSAが検出されていると報告している。以来、MRSAを原因菌とする難治性の感染症が増加傾向を示し、院内感染症としても重大な問題となっている。MRSAの感染防止対策の一つはMRSAの検出状況を知ることにある。MRSAの発生頻度は施設間較差が見られ、それは患者の病種、症状、管理状況等の相違や薬剤使用状況の相違などに起因する^{21)~23)}と指摘されている。その為、各施設における分離状況を常時把握し、院内での感染源、感染経路を推定する為にも疫学的方法をもとに検索を行うことが必要となる。MRSAの疫学的検索の方法としては、薬剤感受性¹²⁾、コアグラゼ型別¹³⁾、ファージ型別^{14),15)}、トキシン産生能¹⁶⁾、プラスミドDNAパターン解析^{17),18)}等がある。今回、ウイルスの宿主特異性を利用して溶菌パターンによりMRSAの菌株を分類するファージ型別の方法を用いて、A病院B病棟より検出されたMRSAについて疫学的検索を行った。

病室のホルマリン消毒前後の3回に渡りB病棟での調査を実施したが、この時、B病棟には保菌者C、D氏が入院中であった。C氏は尿から分離されていたがその周辺からはMRSAは検出されず、第1回目の採取の翌日に退院となった。保菌者D氏はドレーン排液からの分離のみで、患者に感染症状がないとはいえ、D氏の周辺は汚染されていた。第1回目のD氏のベット柵からは、3種類のファージ型の異なる菌株が分離されたが、この内、III・雑群の混合群は処置室診察台のカーテン、看護婦の靴からも検出されたが、その後の調査では第3回目に1カ所から検出され

ただけである。第1回目の採取時にD氏のベット柵のみから検出されたファージ型がI・II・III・雑群の混合群(80/3A,3C/6,42E,47,53,54,75,77,85/81,94に類似)と判定された菌と同一のファージ型の菌株が、第2,3回目になると病棟のあらゆる箇所より検出された(図2)。第1回目の採取から第3回目の採取までは18日間あったが、保菌者のいる病室と非保菌者のみの病室からのMRSAの検出は、第1回目では差がみられず、第2,3回目になると有意の差が認められたが、ファージ型による菌株の違いはみられなかった。これは、保菌者の入院が長くなることにより、同一の菌によりまず保菌者のいる病室内が強く汚染され、保菌者、同室の患者及び医療スタッフを介して他の病室を含む病棟全体への汚染へと広がっていったと考えられた。病室でのMRSA検出状況は、患者のスリッパが中心である。一方、病室での床からは第1回目に3カ所から検出されただけで、スリッパでの汚染状況を考えて床からの検出率は著しく低かった。毎日の消毒剤による清掃が効果をもたらしていると考えられるが、人の出入りの多い病棟入口カーペット、ゴミ置き場前、処置室、浴室、面談室等の入口前の床からはMRSAが検出されており、病室の床からの検出の減少はホルマリン消毒による効果の持続も考えられた。床の清掃ばかりではなく、履物の消毒についても配慮が必要であり、現在、A病院では消毒薬を浸みこませたマットを使用して履物の消毒を行っている。廊下の手すりからは第1,3回目共に検出されたが、この箇所も第3回目に検出された株はファージ型がI・II・III・雑群の混合群(80/3A,3C/6,42E,47,53,54,75,77,85/81,94に類似)と同一の菌株であり、手指による媒介が示唆された。

トイレ・汚物室では第1回目は47.6%と高いMRSAの検出率であった。第1回目以降便座と水道取手のアルコール消毒が行われるようになり、その効果は第3回目の調査に表われていた。第1回目にはトイレのみに特有なファージ型を示した株もみられたが、病室、病棟入口カーペットから検出されたものと同じの雑群の株が検出された。また、第3回目には病棟内に広がっていたI・II・III・雑群の混合群(80/3A,3C/6,42E,47,53,54,75,77,85/81,94に類似)が検出され、トイレ内は専用のスリッパに履き替えることになっているが、その徹底が必要であることを示していると思われた。また、蓄尿袋を置いてある汚物室までは通常の履物で出入りしているが、この場所での汚染が強く、履物の制限や消毒剤による床清掃の徹底等により、病棟内との接触の遮断が必要と思われた。

MRSAは病棟内のあらゆる場所より検出されている現状では、保菌者やその同室の患者ばかりではなく、病棟全体しいては病院全体の患者、付き添い者、医療スタッフを対象として、手洗い、うがいの励行、履物の消毒等の対策が必要である。また、医療器具を介しての感染経路もあり、第1回目の調査でも処置室の診察台からMRSAが検出されたが、その後の毎日のアルコール消毒により消失していることから、部分的な感染経路の遮断は可能である。MRSAによる院内感染をいかに封じ込め、また予防するかという一般的に認容された方法はなく困難である^{11),24)}が、各施設において、可能な対策を講じる必要がある。

以上、A病院B病棟より検出されたMRSAについてファージ型別を行うことにより、感染源、感染経路の推定を行うと共に、病棟内での分布調査を行う上で有用な情報を得るこ

とができた。しかし、今回検出された292株の内、132株(45.2%)は型別不能であった。1989年5月から1990年10月までの間にA病院において臨床材料から分離されたMRSAのファージ型別を行った結果でも、53.8%が型別不能の株であり、A病院では型別不能菌が多いという特徴があった²⁵⁾。現在のファージ型別は23種類のファージ液によって実施されているが、新たなファージの検索が望まれる。また、今回はファージ型別による検索のみであったが、通常、検査室で行われている薬剤感受性試験に加え、その他の型別法の成績を複数組み合わせることにより、より信頼性のある情報を得ることができると思われた。

結 語

A病院B病棟において病室のホルマリン消毒前後の3回の採取により環境よりMRSAを検出し、そのMRSAについてファージ型別による疫学的検索を行った。その結果、第1回目に感染症状のない保菌者周辺のみ存在していたMRSAとファージ型が同一のタイプの菌株による病棟全体への汚染拡大が明らかとなった。この際、患者の履物、手指等を介しての汚染ばかりではなく、他の患者、医師、看護婦等を含めた医療スタッフによる汚染が示唆された。

ファージ型別による疫学的調査により、病棟の環境でのMRSAの分布状況を知ることができ、感染防止対策を考慮する上で、有用な情報を得ることができた。

参 考 文 献

- 1) 横田健：メチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌—基礎編—。感染・炎症・免疫, 14, 87—97, 1984.
- 2) Ubukata, K., et al: Occurrence of a β

-Lactam- Inducible Penicillin-Binding Protein in Methicillin-Resistant Staphylococci. Antimicrobe. Agents Chemother., 27, 851—857, 1985.

- 3) 渡辺正治, 他：メチシリンを含む多剤耐性黄色ブドウ球菌とその流行(抄). Chemotherapy, 30, 1518, 1982.
- 4) 本間保, 他：多薬耐性黄色ブ菌により肺炎を併発した慢性骨髄単球形白血病の1例(抄). 日本内科学雑誌, 72, 352—353, 1983.
- 5) 島田馨, 他：セフェムを含む多剤耐性黄色ブドウ球菌の分離状況と41抗菌剤に対する感受性. Chemotherapy, 31, 835—841, 1983.
- 6) 松本慶蔵, 他：本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌第1報 β -lactam 剤感受性について. Chemotherapy, 32, 344—353, 1984.
- 7) 紺野昌俊, 他：血液培養から検出される細菌の動向について. 感染症学雑誌, 58, 99—112, 1984.
- 8) 島田馨, 他：黄色ブドウ球菌敗血症の研究第1報 メチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌敗血症について. 感染症学雑誌, 59, 459—463, 1985.
- 9) 横田健：MRSA 感染症. 臨床検査, 32, 770—775, 1988.
- 10) 浅野裕子, 他：検査室におけるMRSA 院内感染予防対策. 検査と技術, 19, 603—609, 1991.
- 11) 中込治, 他：院内感染予防に果たす臨床細菌学の役割. 臨床病理, 37, 1231—1237, 1989.
- 12) 菅野治重：抗菌薬感受性測定法. 検査と技術, 18, 1283—1287, 1990.
- 13) 寺山武：黄色ブドウ球菌のコアグラゼ型別. 臨床と微生物, 15, 10—15, 1988.
- 14) 井上松久, 他：黄色ブドウ球菌のファージ型別法. 検査と技術, 17, 1611—1615, 1989.
- 15) 紺野昌俊, 他：黄色ブドウ球菌のファージ型別. 臨床と微生物, 15, 5—9, 1988.
- 16) 五十嵐英夫：黄色ブドウ球菌のエントロトキシンおよびtoxic shock syndrome toxin-1の検出. 検査と技術, 18, 1185—1190, 1990.
- 17) 飛田正子, 他：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)のプラスミド・パターン解析とその

- 病院疫学への応用. 臨床病理, 35, 804—808, 1987.
- 18) 飛田正子, 他: ブドウ球菌のプラスミド抽出法とMRSA感染症解析への応用. 臨床検査, 32, 1033—1036, 1988.
- 19) Jevons, M. P.: “Celbenin”-resistant *Staphylococci*. Br. Med. J., 1, 124—125, 1961.
- 20) Barrett, F. F., et al: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at Boston City Hospital. N. Engl. J. Med., 279, 441—448, 1968.
- 21) 渡辺彰, 他: 多剤耐性黄色ブドウ球菌に関する研究(III)多剤耐性黄色ブドウ球菌分離率の病院間較差, 検体間較差および β -lactamase産生能との相関. Chemotherapy, 35, 699—708, 1987.
- 22) 松本慶蔵, 他: 本邦における病原性の明確な黄色ブドウ球菌—4年間の薬剤感受性とcoagulase型別の変化—. Chemotherapy, 37, 549—562, 1989.
- 23) 猪狩淳, 他: MRSAの疫学と薬剤感受性—沖縄県の主要病院の場合—. 臨床病理, 38, 975—982, 1990.
- 24) Brumfitt W, Hamilton-Miller J: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. New Engl J Med, 320, 1188—1196, 1989.
- 25) 小穴こず枝, 他: 未発表.

受付日: 1991年9月30日

受理日: 1991年11月21日