

外科領域における病院内薬剤耐性ブドウ球菌交叉感染防止に関する研究

第2篇 病院ブドウ球菌叢の成立について

助 手 石 井 哲 也

広島大学医学部外科学第1教室

(指導・上村良一教授)

(昭和 39 年 9 月 16 日受付)

(本論文の要旨は第12回日本化学療法学会総会, および第8回中四国臨床病理学会において発表した。)

目 次

緒 言	
第1章 病院ブ菌叢を把握する自家迅速法	
第1節 空中ブ菌分離における 10mcg/cc 昇汞加寒天 平板培地の有用性	
第1項 実験方法及び材料	
第2項 成 績	
第2節 著者の改良した鼻腔内 Phage 80 型ブ菌迅速 同定法	
第1項 方法および材料	
第2項 成績の検討	
第3節 自家迅速法実施成績	
第1項 新築病棟における空中落下ブ菌の変動	
第2項 医療担当者および入院患者の鼻口腔内ブ菌 の変動	
第4節 小括並びに考按	
第2章 病院ブ菌叢成立に関する1知見特に Phage 80 型ブ菌を中心として	
第1節 病院内各所における Phage 80 型ブ菌の分布	
第1項 検査方法および材料	
第2項 医療担当者の Phage 80 型ブ菌保菌率	
第3項 空中落下ブ菌の状況	
第2節 病院内空中水銀剤の分布	
第1項 検査方法および材料	
第2項 実験成績	
第3節 Phage 80 型ブ菌の消毒剤抵抗性と多剤耐性 について	
第1項 実験方法および材料	
第2項 実験成績	
第3項 抗生剤多剤耐性と昇汞抵抗性	
第4節 小括並びに考按	
結 論	

緒 言

病院内患者間,あるいは医療担当者と患者の間にかかる交叉感染は,古くから観察され,各種の防止手段が構じ

られて来た外科臨床上不都合な,しかも危険な出来事の1つであり,しかも完全な予防方法がないので今尚重要な問題として取扱われている。

WILLIAMS¹⁾, SPINK²⁻⁴⁾などによれば,現在病院内での交叉感染の主役を演ずる病原微生物は薬剤耐性ブドウ球菌(以下,ブ菌)と言うことである。

第1篇において,著者は病院内環境から分離されるブ菌には多剤耐性株が多く,Phage 80, 81に溶菌されるものが増加しつつあり,薬剤耐性 Pattern に於いても同一の傾向を示すものが少なくないと報告した。

もしての様な多剤耐性ブ菌によつて病院内環境が汚染され,それらのブ菌株が病院内における疫学的な交叉感染の Cycle を形成するようになれば,術前,術後の患者を重症ブ菌感染症から守ることは非常に困難になると思わねばならぬ。

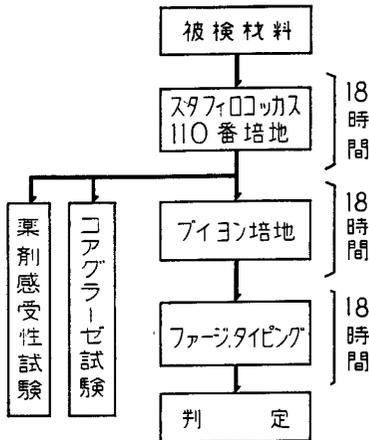
著者はこの様な危険な病院ブ菌叢を構成する Phage 80 型ブ菌の分布を従来よりも迅速に,かつ簡単に同定する方法を考案し,併せて病院内環境で Phage 80 型ブ菌を増加させる因子を追及して成果を得たので報告する。

第1章 病院ブ菌叢を把握する自家迅速法

第1篇に於いて,著者は体表ブ菌叢中特に鼻,口腔内ブ菌が創傷感染と密接な関係があり,交叉感染の源としても重要であること,又病院内ブ菌叢の成立には病院内空中ブ菌が大きな役割を果していることなどを強調した。従つて我々が病院ブ菌の交叉感染を防止するためには,どうしても,この両者を常に厳重に監視すべきであると考えている。

ところが,これらブ菌の分離同定にしても或は Phage 型別にしても,従来の方法では,少なくとも2日間の日時と多くの材料や労力を必要とする。図1は今迄の処理法を示したものであるが,余りにも煩瑣すぎるので,著者はより簡単な操作で,しかも迅速に結果が得られるようになることを望み,自らも色々工夫を重ね,可成りの成績をあげ得る方法を見出したので,それについて報告する。

図1 従来上村外科に於て行なわれて来た病院ブ菌検出の順序



第1節 空中ブ菌分離における10mcg/cc昇汞加寒天平板培地の有用性

B. MOORE⁹⁾ は1960年、Cut-gut と共に培養したブイオン培地に Phage 80 型ブ菌が特異的に発育する事実から、昇汞耐性と Phage 型との関係を調査し、昇汞 37 mcg/cc に耐性であるものは I 群の 76.1%、II 群の 3.0%、III 群の 40.0%、型別不能群の 36.6% を占めており、Phage 80 型ブ菌の 95.1% が昇汞に耐性であったことなどを報告している。以下の実験では、日常用いられているブ菌の分離培地と 10 mcg/cc 昇汞加寒天培地に於けるブ菌の群別発育状態を観察し、空中ブ菌中特に Phage 80 型ブ菌分離成績を検討した。

第1項 実験方法および材料

培地：10 mcg/cc 昇汞加寒天培地の調製は次の様に行なつた。即ち水 1 L に対し、粉末寒天 15 g、ポリペプトン 10 g、肉(カツオ)エキス 10 g、NaCl 3 g を加え、120°C 30 分滅菌後、60°C に保温し、規定量の昇汞溶解液を添加するのである。また P.P 培地、マンニット食塩培地は栄研製の市販のものを使用した。

検査の対象はすべて広島大学附属病院内の患者、および医療担当者から分離されたブ菌株であり、Coagl. 陽性株は 1 R. T. D. の Phage 液により、Phage 型別が行なわれたもののみを用いた。

第2項 成績

表1は各培地の Coagl. 陽性株分離能を示したものである。10 mcg/cc 昇汞加寒天培地上では I 群に属する 28 株の内 27 株が発育し、阻止されたものは 1 株にすぎなかつたが、Coagl. 陰性の 12 株はすべて発育を阻止された。同じブ菌株の、P.P 培地上での Phosphatase 活性

能を見ると、I 群に属する 26 株では Phosphatase 活性を認めたが、2 株では陰性であつた。Coagl. 陰性の 12 株は全部が、Phosphatase 活性陰性を示した。マンニット食塩培地では I 群に属する 28 株が皆マンニット分解陽性と判定されたが、Coagl. 陰性の 9 株が陰性で、3 株が陽性であつた。

表2は直径 10 cm のシャーレに、夫々 10 mcg/cc、50 mcg/cc、75 mcg/cc、100 mcg/cc の昇汞添加寒天培地を作り、7.5% NaCl 寒天培地と共に、病室内の同一場所に 30 分間開放し、37°C、24 時間培養後に発育した集落からブ菌株のみを算定し、算術平均値で示したものである。普通寒天平板上では、42 株のうち 10 株が Coagl. 陽性であり、10 mcg/cc 昇汞加寒天平板培地では

表1 各種培地の病原ブ菌分離成績

被検株	10 γ /ml 昇汞加寒天培地		P.P 培地		Mannitol 食塩培地	
	発育	阻止	Phosphatase 活性		Mannitol 分解能	
			(+) (+)	(±) (-)	(+)	(-)
Coagulase 陽性 I 群 28 株	27	1	26	2	28	0
Coagulase 陰性 12 株	0	12	0	12	3	9

表2 昇汞加寒天平板培地による空中ブ菌の採取

培地	普通寒天平板培地	昇汞			
		10 γ /ml	50 γ /ml	75 γ /ml	100 γ /ml
集落数(平均)	42	5	1	2	0
Coagulase 陽性株数	4	5	1	2	0
Coagulase 陰性株数	38	0	0	0	0

表3 分離されたブ菌株の Phage 型と抗生剤感受性

No.	Phage 型	P	C	S	M	T	C	P	Sul	E	M	K	M
1	80	R	R	R	S	K	S	S					
2	80	R	R	R	R	R	S	S					
3	80	R	S	R	S	R	R	R					
4	80/81	R	R	S	S	R	S	S					
5	80/52	R	R	R	S	R	R	R					
6	80/77/53	R	R	R	R	R	R	R					
7	80/77/53/81	R	S	S	R	R	R	R					
8	80/73/52/52A/79	R	R	R	S	R	R	S					
9	不能	S	S	R	S	R	S	R					
10	不能	R	S	R	S	S	S	S					
11	不能	R	R	R	S	R	R	S					
12	不能	R	S	S	S	R	S	S					

S : 感受性 R : 抵抗性

11 株, 50 mcg/cc で 2 株, 75 mcg/cc で 2 株の Coagl. 陽性株が發育し, 100 mcg/cc では全く生育しなかつた。

この時得られた Coagl. 陽性株の Phage 型, および抗生剤感受性は次の表 3 に示す通りである。即ち, I 群に属するものが最も多く, 中でも Phage 80 に溶菌 Pattern をもつ株が一番多数分離され, I + III 群にわたる溶菌 Pattern をもつ株も分離されたが, いずれも, Phage 80 をその Pattern の中に含んでいた。それらのブ菌の抗生剤に対する感受性はすべて低く, 耐性を示すものが少なくなかつたが, 中でも Sulf 剤は別として, PC, SM, TC の 3 者に同時に耐性を示すものが多かつた。

第 2 節 著者の改良した鼻腔内 Phage 80 型ブ菌迅速同定法

第 1 篇第 3 章に於いて詳述した様に, 我々の病棟では, 多剤耐性 80 型ブ菌が, 院内ブ菌叢の中で優位を占めており, 常に院内の患者, あるいは医療担当者などの中で交叉感染の Cycle を形成しつつ, 術中, 術後の創感染あるいは重症全身感染の機会を窺っているのである。そこで, Phage 80 型ブ菌汚染者を, 早期に, 迅速に発見し, 未汚染者から隔離する必要がある, またこれから積極的に Phage 80 型ブ菌を排除せねばならない。即ち有効抗生剤の投与, 鼻腔, 口腔内への抗生剤, あるいは消毒剤などの噴霧, 含嗽などを励行すべきである。そこで, 著者はまず ASHESHOV⁶⁾ の原法を検討し, その不備な点を改め, 色々工夫し, 簡便な操作でしかも正確に, Phage 80

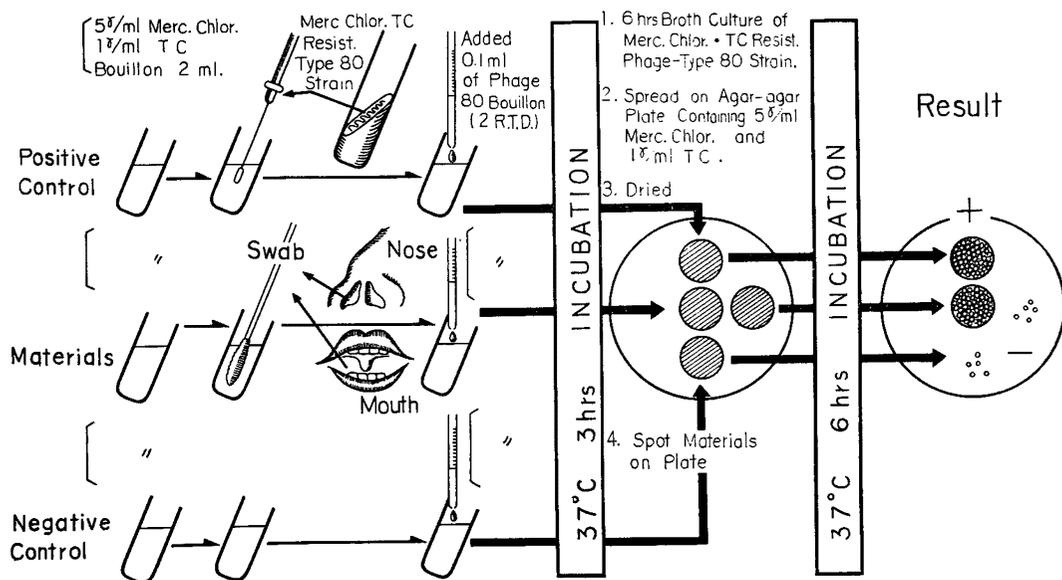
型ブ菌を同定することに成功したので, 以下それについて記述する。

第 1 項 方法及び材料

ASHESHOV⁶⁾ はその原法を Phage 80 型ブ菌迅速検査法とよんでいるがその方法は次のように行なうのである。第 1 段階として 2 cc の弱酸性ブイオンに被検体を混じ, 1% の CaCl₂ 溶液の 0.08 cc と 1 cc 中 10⁵ の Phage 80 を含有する懸濁液の 0.1 cc を加え, 37°C の孵卵器内で 5~7 時間培養し, 指示混合株を塗り掛け, 乾燥させた寒天平板上に spott として置く, この寒天平板地内には他の菌の發育を防ぐために TC が 1 cc 中 100 単位加えられている。この平板培地を 37°C で 4~5 時間培養し, (+)(-) の対象 spott と比較しながら, 平板上の plaques の数を数え, (+) 対象の plaques に近似値が得られた spott には, Phage 80 ブ菌が存在すると判定するのである。著者が改良した方法は図 2 に示す如きものである。

即ち第 1 段階では 5 mcg/cc の昇汞, 1 mcg/cc の TC を加えたブイオン培地 2 cc を用意し, 各培地に 3RTD (10⁸ × RTD) の Phage 80 液 0.1 cc づつを加え, (+) 対照管には既知の CT 耐性 80 型ブ菌 (斜面培地 24 時間培養後) の 1 白金耳を加える。検体管には, 被検材料を滅菌綿棒, 其他で採取し (-) 対照管には何も加えず, 30°C で 3 時間 (時々振盪しながら) 培養する。この間 (+) 対照管の中では, Phage 80 型ブ菌による Phage 80

圖 2 Rapid Screening Test for Phage-Type 80 Staphylococci —Asheshov's Method Modified by Ishii (1961)—



の増殖が起り、Phageの数が十分に増加する。もし検体の中に80型ブ菌ら存在すれば、(+)対照管中と同様な現象が起り、存在しない場合は(-)対照管中と同様に何等の変化も起らないので、Phage数は不変乃至死滅による減少を示す。一方他の細菌は、同時に加えられた5mcg/ccの昇汞、1mcg/ccのTCに依つて発育が阻止される。これがASHOSHOVの原法と異なる点である。

以上の操作を加えた培養液を、予じめ昇汞5mcg/cc、TC1mcg/cc含有寒天平板培地に塗布し、乾燥した既知の80型ブ菌の上に、それぞれSpottとして置き、37°Cで6時間培養すれば、内臓するPhageの数に相当するPlaquesの数が、平板上に認められるようになる。このPlaquesの数が、(+)の対象に近いときは検体中に80型ブ菌が存在し、(-)対象近似値の場合は、80型ブ菌の存在が否定される。この方法に慣れれば、1人の技術者が1日に数百の被検体を取扱う事が可能になる。

注：(+)対象のPlaquesの数が50~60=前後が数え易く、第1段階に加えるPhage液の量を予じめ調節することが必要な場合もある。

第2節 成績の検討

この実験で患者病巣より得たブ菌株をWILLIAMS and RIPPON⁷⁻¹⁰⁾の方法(IR. T. D.)でPhage型別を行なつた成績と、同じ菌株について、ASHESHOVの原法と我々の変法を行なつた場合に得られた成績とを示したものが表4である。ASHESHOVの原法ではIR. T. D.のPhage Patternに80を含んでいる菌株の殆んどすべてのものに陽性の成績を示すが、我々の変法では、No. 25, 28, 29, 31, 34, 45, 47, 48, 51, 59のブ菌株に見られる様なPhage Pattern 52, 或いは不能群の中で、ASHESHOVの原法では疑診あるいは陰性の成績を示すものすら陽性に現われることもある。

実際に患者や医療担当者の鼻口腔ブ菌について両者を

表4 ASHESHOVEの原法と我々の変法の成績比較

株番号	Phage Pattern (IR. T. D.)	ASHESHOVEの原法	我々の変法	TC	昇汞	株番号	Phage Pattern (IR. T. D.)	ASHESHOVEの原法	我々の変法	TC	昇汞
1	55/71	(-)	(-)	S	S	31	不能	(-)	(+)	R	R
2	80/52/52A/79	(+)	(+)	R	R	32	80	(+)	(+)	R	R
3	80/52/52A	(+)	(+)	R	R	33	不能	(-)	(-)	S	S
4	3C/3B/3A/71	(-)	(-)	S	S	34	3B/3A/52/52A	(-)	(+)	R	R
5	80	(+)	(+)	R	R	35	55/71	(-)	(-)	S	S
6	80/73	(+)	(+)	R	R	36	80	(+)	(+)	R	R
7	3C/3B/3A/71	(-)	(-)	S	S	37	55/71	(-)	(-)	S	S
8	3C/3B/3A/71	(-)	(-)	R	S	38	80	(+)	(+)	R	R
9	不能	(-)	(-)	R	S	39	80	(+)	(+)	R	R
10	3C/3B/3A/71	(-)	(-)	R	S	40	80	(+)	(+)	R	R
11	75/76/53/77	(-)	(-)	R	S	41	不能	(-)	(-)	S	S
12	3C/3B/3A/71	(-)	(-)	R	S	42	不能	(-)	(-)	S	S
13	80/73	(+)	(+)	R	R	43	53±	(-)	(-)	R	S
14	80/73	(+)	(+)	R	R	44	53/71	(-)	(-)	R	S
15	3C/3B/6/7	(-)	(-)	S	S	45	不能	(±)	(+)	R	R
16	不能	(-)	(-)	S	S	46	不能	(-)	(-)	S	S
17	47/54/53/77	(-)	(-)	R	S	47	不能	(±)	(+)	R	R
18	不能	(-)	(-)	S	S	48	6/75/76/52	(-)	(+)	R	R
19	80/6	(+)	(+)	R	R	49	55/71	(-)	(-)	S	S
20	47/54/75/77	(-)	(-)	R	S	50	不能	(-)	(-)	R	S
21	80	(+)	(+)	R	R	51	不能	(±)	(+)	R	R
22	80/55/71	(+)	(+)	R	R	52	3A/42E	(-)	(-)	R	S
23	不能	(-)	(-)	R	S	53	3A/42E/47	(-)	(-)	R	S
24	不能	(-)	(-)	R	R	54	3B/55/71	(-)	(-)	R	S
25	不能	(±)	(+)	R	R	55	3A/42E/47	(-)	(-)	S	S
26	不能	(-)	(-)	S	S	56	不能	(-)	(-)	S	S
27	不能	(-)	(-)	S	S	57	3A/42E/47	(-)	(-)	R	S
28	不能	(±)	(±)	R	R	58	3A/42E/47	(-)	(-)	S	S
29	不能	(-)	(+)	R	R	59	52	(±)	(+)	R	R
30	不能	(-)	(-)	S	S	60	80	(+)	(+)	R	R

+ : Phage 80 型ブ菌陽性 R : 抵抗性
- : Phage 80 型ブ菌陰性 S : 感受性

表 5 Phage 80 型ブ菌の選択性に関する ASHESHOVE の原法と我々の変法の比較

検 体	ASHESHOVEの原法		我々の変法	
	陽 性	他の菌の発育	陽 性	他の菌の発育
87	27 名	21 名	33 名	3 名
81	22 名	23 名	34 名	2 名

同時にやつて見ると、表5の如く、ASHESHOVの方法で得られたよりも Phage 80 型ブ菌陽性頻度が高い。また ASHESHOV の方法では、他の菌が Spott に一致して発育し、結果が明らかでないものが2回の調査を通じて44名に達しているが、我々の方法では、この様なものは5名にすぎなかつた。鼻腔、口腔の如く、色々な菌が常在する場所では、Phage 80 型ブ菌が他の菌と混在していることが多く、TC 耐性菌の増加した今日では TC のみでは淘汰が困難であり、また他の菌が Spott の中で発育する場合は、Phage 80 型ブ菌が存在するや否やの判定を困難とすることが少くないので、昇承による同型菌の撰択の方が有利であると考えられる。

第3節 自家迅速法実施成績

第1項 新築病棟における、空中落下ブ菌の変動

本章第1節に述べた10 mcg/cc 昇承加寒天平板培地、30分間開放による空中落下ブ菌採取を、広島大学医学部附属病院内に新築された病棟に於いて、患者収容前後に実施した。

その成績は図3に示す如く、患者収容前には殆んどブ菌を認めなかつたが、収容後は逐時落下ブ菌集落数が増加した。しかし、収容後22日目と収容後6ヵ月目、落下ブ菌集落数には殆んど差が認められないので、大略3週で一応新しいブ菌叢は平衡状態になるものと推察される。就中昇降機内の落下ブ菌数が非常に大きいことは、こ

図3 新築病棟内空中落下ブ菌数の変動

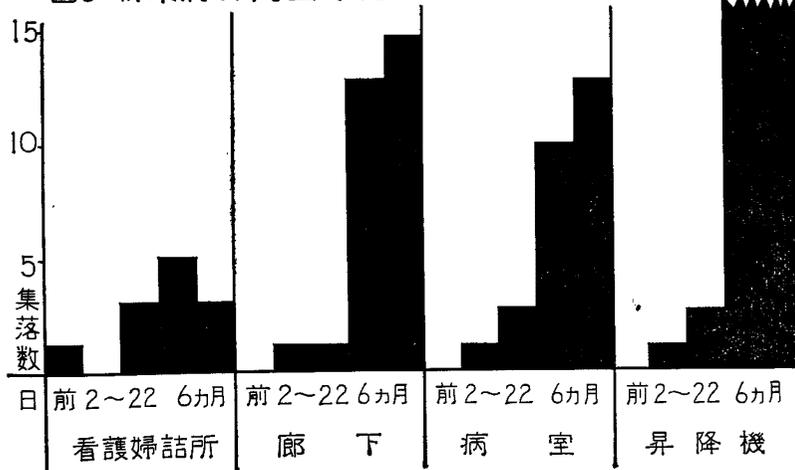


表 6 院内鼻口腔ブ菌保菌者数 (迅速同定法による)

総 数	医療担当者		旧病棟患者		新病棟患者			
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)		
32 名	21	11	43 名	18	25	30 名	7	23
	65.6%	34.4%	41.9%	58.9%	23.3%	76.7%		
鼻(+)	12		11		3			
鼻(-)	8		3		2			
鼻(+)	1		4		2			

(+) : Phage 80 に溶菌するブ菌保菌者
 (-) : 非保菌者

の部の空気が高度に汚染されているからであつて、同機の公共性を考えると、ここでは、体表ブ菌の交叉感染の機会が非常に多く、まず同機内空中ブ菌に対する対策をたてるべきであることを示唆された。

第2項 医療担当者および入院患者の鼻、口腔内ブ菌の時期的変動

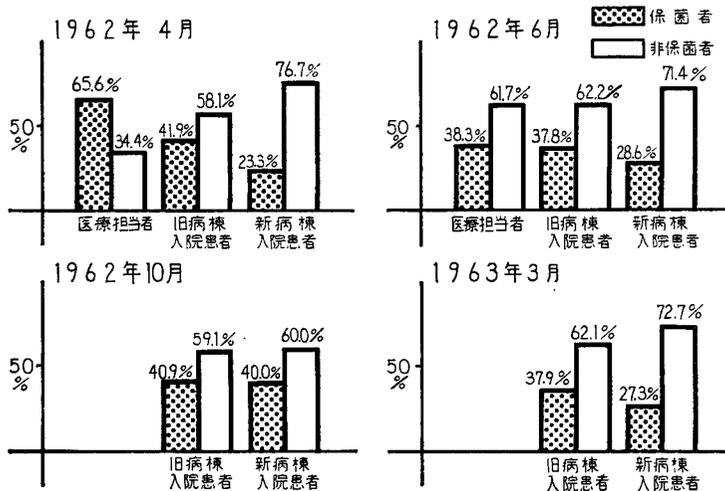
Phage 80 型ブ菌迅速同定法を1962年4月、我々の病棟に入院中の患者および医療担当者に実施した結果は表6に示す通りである。即ち医療担当者32名中、陽性が21名(65.6%)陰性は11名(34.4%)であり、鼻腔に陽性で、口腔が陰性のもの12名、鼻腔に陰性で口腔が陽性のもの8名、鼻口腔共に陽性であつたものは1名であつた。

旧病棟の入院患者で陽性を示したものは41.9%、1ヵ月前に患者を収容し始めた新築病棟で陽性を示した者23.3%にすぎなかつた。

更に、1962年6月、1962年10月、1963年3月の3回同

様の調査を行なつたが、その成績の推移は図4に示す如く、1962年4月の第1回調査から約2ヵ月後には医療担当者の陽性率は65.6%から38.0%に、旧病棟患者のそれも41.9%から37.8に減少し、逆に新築病棟患者では23.3%から28.6%に少々増加してゐる。同様に1962年10月、1963年3月の成績を見ると保菌率は季節的、若しくは流行による変動とも見做されるべき大きな幅をもつて変動してゐることが認められた。

図4 Phage 80型ブ菌鼻腔内保菌率の推移



第4節 小括びに考按

病院内空中落下細菌には病原性、非病原性を問わず、非常に多くの種類があり、それらの中からブ菌、特に病原ブ菌のみを選択的に採取する試みは古くから多くの研究者によつて行なわれている。

病原性ブ菌が食塩に強い抵抗性を示すことは CHAPMAN⁽¹¹⁾によつて発見され、7.5%の食塩を含有する寒天培地がブ菌を選択的に分離するのに便利であることが認められたが、現在、マンニト食塩培地、あるいはスタヒロコッカスNo. 110培地、CHAPMAN-STONE培地⁽¹²⁾として臨床的に広く用いられている。桑原⁽¹⁴⁾も Genus *Staphylococcus* と Genus *Micrococcus* との鑑別は食塩強度耐性と言うブ菌に特有な生物学的性状を利用して行なうのが実際に適した方法であろうと称しておる。

しかし、7.5%食塩加寒天培地に発育する集落のすべてが病原性ブ菌でないことは明らかである。現在最もブ菌の病原性と密接な関係にある生物学的性状⁽¹⁵⁻²⁰⁾と云われておる Coagl. 産生能とブ菌の食塩耐性ととの関係は、この実験の ii) に見られる様に一致しないことが多く、食塩抵抗性ブ菌の中にも非病原性株が多く含まれることを示しておる。

ここで病院ブ菌叢把握のために実施する病院内空中ブ菌採取時目標となるのは病原性ブ菌である。しかし集落のすべてについて Coagl. 試験を行なうと言う様な煩雑さは、広範囲に度々この様な調査を続けねばならないと言う意味からも出来るだけ避けなければならない。

この様な見地から KLEMPERER⁽²¹⁾等は PC 耐性の Coagl. 陽性ブ菌の迅速分離の方法として PC 0.1 u/cc を加えた食塩加寒天平板培地に 15% の新鮮な人血清を塗り拡げ、平板培地上で血清の不透明化を見ることによ

つて、Coagl. 試験を行うことを試みておる。

また DENEKE⁽²²⁾等はこの方法を改良して食塩加寒天培地に 3% の牛フィブリノーゲン溶液を混じ、平板表面に 3% の家兎血清の 0.3cc を塗り拡げ、集落周囲に出来るフィブリンの白濁を観察することによつて、より容易に Coagl. 陽性株を見出し得ると称している。

一方、このように直接 Coagl. 試験とつづくばかりでなく、細菌の酵素学的性状の解明が進むにつれて、Coagl. 産生能とそれらとを結びつけて病原性ブ菌を分離する試みも亦盛んに行なわれている。

GORDON⁽²³⁾等はクロロフォルムで処理したブ菌が glycerophosphatase を有することを証明したが、それ以来、ブ菌の phosphatase 活性能に関する業績が多くなり⁽²⁴⁻²⁵⁾、BARBER の如きは Coagl. 陽性株が phosphatase 陽性株でもあると報告しておる。これらの学説を採り入れ、病原性ブ菌の選択培地として phosphatase 活性判定可能の P. P. 培地が用いられており、その成績も、STÄHELIN⁽²⁷⁾、RANGAM⁽²⁸⁾、GUPTA⁽²⁹⁾、WHITE⁽³¹⁾、MOHAN⁽³⁰⁾等は略々満足すべきものであると称しておる。しかし、Coagl. 陽性株の 6% 内外には phosphatase を証明されなかつたようであるが、著者の追及の結果も大体それと一致した。

以上の如く Coagl. 陽性株を迅速に分離する方法の開発が進められるとともに、臨床的には最も多くの問題を提起する抗生剤耐性ブ菌のみを検出しようと言う試みが行なわれておる。

GILLESPIE⁽³²⁾等によれば Bristol で得られた Coagl. 株の多くは egg-yolk 反応に陽性を示し、病院外患者に由来するブ菌の 82% が同反応陽性であるのに反し、入院患者由来のもの陽性率は 45% にすぎなかつたこと、および PC 耐性株の殆んどが egg-yolk 反応陰性であつたことなどから、PC 耐性ブ菌の screening に有用であると言う。

しかし斎藤⁽³³⁾等は、赤痢病棟、小児病棟、S病院の 3カ所から分離した Phage 80 型ブ菌について egg-yolk 反応を行ない、S病院からの Phage 80 型ブ菌のみに陰性が見られ、他は陽性であつたと称し、疫学的見地からは興味があるが、日常臨床的に価値のある方法とは言えない様である。

従つて、前述の MOORE⁽⁵⁾が報告した、昇汞加寒天平

平板地による空中ブ菌採取は、その操作が簡便であり、著者の実験成績からも判るように、病院ブ菌中最も重要な Phage 80 型ブ菌の殆んどを捕捉することができるので、これまでの多くの方法に優れていると思う。尚 MOORE の原法は昇汞を 1:27,500 の割合 (約 40 mcg/cc) で加えるのであるが、1群の 76.1% がその上で発育し、Phage 80 型ブ菌の 113 株中 107 株が発育すると言う。西村等⁸⁴⁾はこれを追試し、昇汞を 1:55,000 (約 20 mcg/cc) の割合で加えるのが適当であると称しているが、著者の実験では Phage 80 型ブ菌の大部分を採取出来ると言う意味で 10 mcg/cc 含有寒天培地が最好と考えられた。

他方、MOORE の方法を追試した SMITH⁸⁶⁾ は、493 のブ菌株について実験し、epidemic strain は non-epidemic strain よりも、昇汞に耐性なものが多いが、Coagl. 陰性株の 49% が昇汞耐性であったので、epidemic strains の分離培地としてこれは有用でないと述べている。しかし、著者及び西村⁸⁴⁾の実験では、Coagl. 陰性ブ菌に昇汞抵抗性を認めていない。Coagl. 陰性ブ菌の地域的な分布の差によるものかも知れないが、結論は今後の検討にゆづることとする。

さて、ASHESHOV⁶⁾ が 1961 年に報告した Phage 80 型ブ菌迅速同定法は、KATZNELSON³⁷⁾ 等の Idea を汲む、まことに優れた方法であるが、鼻口腔内から材料を得るので、不定の細菌による汚染はさけられず、著者が行なつた追試の結果でも、第 1 段階に於いて Phage 80 型ブ菌以外の TC 耐性ブ菌の汚染により、Plaques が判然としなくなる場合が多いと言う欠点があつた。著者は、Phage 80 型ブ菌の殆んどが 10 mcg/cc の昇汞に耐性であり、一方他の型のブ菌は昇汞により発育が阻止されるから、昇汞を第 1 段階、第 2 段階に加えることによつて更に良好な成績を得ようとした。その結果、昇汞による Phage の不活性化を考慮し、5 mcg/cc の昇汞を培地に加えれば、所期の目的を達せられることが判り、他の型のブ菌の優勢である部位の材料からも容易に Phage 80 型ブ菌を証明し得る様になつた。

以上の様にして、第 1 篇に述べた如く、病院ブ菌叢の中で最も重要な地位を占める Phage 80 型ブ菌の院内での分布を把握するためには、10 mcg/cc 昇汞加寒天平板培地により病院内空中落下ブ菌を採取し、同時に Phage 80 型ブ菌迅速同定法を頻回に行なうべきであると悟り、実施した成績は、第 3 項に示す様に、新築病棟にブ菌の侵淫する推移を明確に示した。

大熊⁸⁵⁾は久留米大学付属病院に於いて、寒天平板培地を用い同様の検索を行なつておる。その結果手術室や病棟ではいづれも使用開始直後から著しく空中細菌が増加

し、分離されたブ菌の PC. Sulf 剤耐性頻度も使用開始後に非常にたかまつたと述べておるが、これも著者の成績と一致している。新しい病棟内でのブ菌侵淫の時間的経過は、本調査により約 22 日目に略々、平衡状態となることが判明した。

病院内ブ菌叢を構成するもう 1 つの重要な因子である鼻腔内ブ菌の消長も本調査の結果、時期によつて大幅な変動を示し、健康人の平均保菌率を著しく越えるときには、適切な対策をたてるべきであるという示唆を与えられた。

その対策の詳細にわたつては後述するが、本章に記述した 2 つの検査方法は、病院ブ菌交叉感染防止対策を実施するのに最も重要な病院ブ菌叢の実態を把握するため簡便でしかも有用な方法であると思う。

第 2 章 病院ブ菌叢成立に関する一知見

——特に Phage 80 型ブ菌を中心として——

病院内で分離されるブ菌の薬剤耐性頻度は、外来、もしくは病院以外から得られたブ菌の薬剤耐性頻度より高度であることは、第 1 篇に於いても述べたし、また多くの報告にも見られる事実である。かくの如く薬剤耐性株の増加する機転には色々な因子が関与することが考えられ、例えば SPINK²⁻⁴⁾ 等は、TC の病院内使用量と、TC 耐性ブ菌の増加とは略々平行するところから、薬剤の使用によるブ菌の創内あるいは鼻腔内での淘汰がその原因となり得ると言い、我国に於いても岩崎⁸⁸⁾は同様の現象を認めている。GOULD³⁹⁾ は、病院内の空气中、あるいは塵埃の中に、極く微量の PC を証明し、これは医療に PC を使用する際微量に散布されたものであるが、院内に生活する人々の鼻腔内で PC 感受性ブ菌淘汰に参与し、かくて PC 耐性菌の院内における増加をもたらすものと説明しておるが、ELECK⁴⁰⁾ 等もこれに同意しておる。

著者は、第 1 篇に於いて、広大附属病院内のブ菌叢を構成する主なブ菌株は、多剤耐性 Phage 80 型ブ菌であることを述べ、第 2 篇第 2 章では、同 Phage 型ブ菌迅速同定法を検討し、自家同定法によれば、入院患者、医療担当者の鼻口腔、および空中落下ブ菌からも同型ブ菌が高率に検出できることを記述した。

この様な研究を行なつている間に、同一時期でも医療担当者の鼻腔内 Phage 80 型ブ菌保菌率に、院内での勤務場所によつて大きな隔りがあることを知り、院内環境の異なりによつて、この様な差が生れるのではないかと言う疑問を抱くようになった。そこで色々試みて、病院ブ菌叢の構成に与る因子についていささかの知見を得たので報告する。

第 1 節 病院内各所における Phage 80 型ブ菌の分布

第1項 検査方法および材料

広島大学府看病院に常勤する医療担当者の中で、第一外科病棟に勤務する看護婦、第一内科に勤務する看護婦、手術室に1年以上常勤する看護婦を検査の対象とした。

これらを選定した理由は、外科病棟、内科病棟および手術室が夫々抗生物質や消毒剤の使用量を異にし、勤務時間は略々一定しているが、3者の間には殆んど接触がないからである。

検査は滅菌綿棒で鼻腔内より材料を採取し、第2篇第2章に述べた Phage 80 型ブ菌迅速同定法によつて調査した。病院内各所の空中落下ブ菌の採取は、第1章の 10 mcg/cc 昇汞加寒天平板培地を用い、30 分間開放により行なつた。

第2項 医療担当者の Phage 80 型ブ菌鼻腔内保菌率
1962年2月および3月の2回病院内の3カ所の常勤看護婦の鼻腔内 Phage 80 型ブ菌を調査したが夫々の保菌率は、表7に示す通りである。即ち手術室勤務看護婦15名(2月)と、13名(3月)の保菌率は73.3% および76.9% で、平均75%の高率を示し、外科病棟に勤務する16名(2月)および18名(3月)の調査では31.3%、44.4% で平均38.3%。内科病棟に常勤する看護婦ではこの値はさらに低率で、25%(2月)、および22.2%(3月)、平均23.5%であつた。

表7 勤務場所別看護婦鼻腔内 Phage 80 型ブ菌保菌率 (Phage 80 型ブ菌迅速同定法による)

勤務場所	調査の時期	例数	80型ブ菌陽性者	%	平均%
手術室	1962.2	15	11	73.3%	75%
	1962.3	13	10	76.9%	
外科病棟	1962.2	16	5	31.3%	38.3%
	1962.3	18	8	44.4%	
内科病棟	1962.2	8	2	25%	23.5%
	1962.3	9	2	22.2%	

表8 病院内場所別空中落下ブ菌数

(10 mcg/cc 昇汞加寒天平板)

培地30分間開放による。

(1962年2月・午後2時)

	外科病棟			内科病棟			手術室		
	10cmシャーレ 平均集落数 (5コ)								
第1回	15	4	5	15	4	5	15	4	5
第2回	14	8	4	14	8	4	14	8	4
第3回	15	2	6	15	2	6	15	2	6
第4回	10	6	2	10	6	2	10	6	2
第5回	16	10	5	16	10	5	16	10	5
平均	14	6	5	14	6	5	14	6	5

第3項 空中落下ブ菌の状況

前述の看護婦達が勤務する各病棟、手術室の空中落下ブ菌を、10 mcg/cc 昇汞加寒天培地 30 分間開放によつて調べて見ると表8の如く、外科病棟では平均14コ、内科病棟では平均6コ、手術室では平均5コの10 mcg/cc 昇汞耐性のブ菌集落が得られた。

手術室では、室内のエアコンディショニング、着衣の消毒等、環境の整備には十分な注意が払われているにも拘らず、外科病棟よりは少ないが内科病棟とあまり変わらない空中落下ブ菌が証明されておる。この事実は前項の看護婦の鼻腔内保菌率と合せ考えると、その多くは看護婦の鼻腔由来のものと思われる。

第2節 病院内空中水銀剤の分布

第1節に述べた様な、手術室と他の病棟に常勤する看護婦の Phage 80 型ブ菌鼻腔内保菌率に大きな差が生じる因子を解明すべく、両者の環境の相違を調査した処、環境内の空気中或いは塵埃中に撒布し、鼻腔内に吸着されて、そこでブ菌を撰択する可能性をもつ抗生物質および消毒剤の使用量に大きな差があることに気付いた。

即ち、外科病棟では、消毒剤として少量の昇汞および有機水銀剤を使用するが、抗生剤は非常に多量に取扱つておる。

一方手術室においては、抗生剤は殆んど使用されず、消毒剤として昇汞、あるいはオキシアン、メルチオレート等の無機、有機水銀剤が大量に使用されているのである。

すでに B. MOORE⁵⁾ は Phage 80 型ブ菌が昇汞に高度の耐性を持つ事が多いと報告しているが、著者は、これら水銀系消毒剤の使用量が、鼻腔内80型ブ菌保菌率の差を生じる有力な因子の1つとなるのではないかと、いう仮説のもとに次の実験を行なつた。

第1項 検査方法および材料

消毒による消毒剤空中撒布の可能性を知るため Hg を指標にして Dithizone 法により定量した。

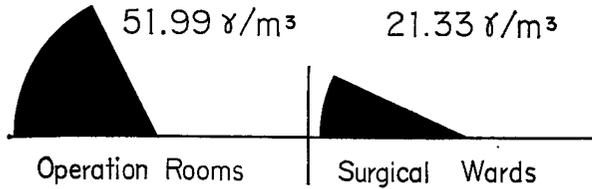
空中塵埃の採取法：インビンジャーを用い、1 m³の空気を5ccの捕集液(蒸留水)を満たした捕集ビン3本中へ通じ採取した。この液に5N-HNO₃ 10ccを加え、煮沸浴中で10分間加温後、蒸留水を加え50ccの被験液とする。

Hgの定量：HNO₃ または H₂SO₄ 酸性(0.5N~1N)溶液中で Dithizone を反応させると一般金属は反応せず、Hgは Dithizone 塩をつくり CCl₄ 層に抽出され、橙色を呈する。

先ず HgNO₃·H₂O を5N-HNO₃ に溶解し、蒸留水で稀釈し1cc中Hg1mcgを有する1規定溶液を調製し、標準液とする。この標準液から各種濃度の系列を作り、0.6 mcg/dl の Dithizone-CCl₄ 液で抽出発色させ、被検

図5 病室・手術室内空气中水銀量

— Quantified by Dithizone Method —



液と共に波長 605 mμ で比色し、標準液の検量線から定量した。

第2項 実験成績

本実験を手術室、外科病棟処理室、内科病室処理室で採取された被検液について5回づつ行なつたが、図5の如く手術室では平均 51.99 mcg/m³ の Hg が検出され、外科病棟では 21.33 mcg/m³ にすぎず、また内科病棟のそれは殆んど検出不能であつた。この様に、昇汞、オキシアン等による手洗いが常時行なわれている手術室空中には、外科病棟の約 2.5 倍量の Hg を認め、消毒剤を使用すれば、同時にそれらの薬剤が空中に飛散する事実を認めた。

鼻腔内でのこれ等の消毒剤の証明は不可能であつたが、空中に飛散した消毒剤が、常にその様な環境に勤務して居る人々の鼻腔内に吸着され、ブ菌の保菌状態に何等かの影響を与えるであろう事は容易に推測される。

第3節 Phage 80 型ブ菌の消毒剤抵抗性と多剤耐性について

第1項 実験方法および材料

本実験に用いたブ菌株は、1962年度広島大学医学部附属病院外科、および東洋工業病院皮膚科において、患者病巣から分離し、Coagl. 試験、Disc 法(栄研)による抗生剤感受性試験および、Phage 型別の施行されたものを用いた。Coagl. 試験陽性株は 77 株であつて、Phage 80 型 35 株、Phage 52/80 型 9 株、Phage 52A/52/80 型 16 株、Phage 71 型 8 株、Phage 3C/3B/55/71 型が 9 株、である。その他 *Staph. epidermidis* の 40 株と合計 117 株について実験を行なつた。用いられた消毒剤は、昇汞、オキシアン、メルチオレート、マーキュロクロム、リバノール、石炭酸、ジアミトール、クロールヘキシジンの 8 種で、いずれも出来るだけ純粋のものを入手使用した。予備実験においては階段希釈寒天平板培地により本実験においては Gradient plate 法によつて実験を行ない、接種したブ菌株は、いずれも斜面培地より 1 白金耳鈎菌してグイヨン培地で 24 時間培養したのを用いた。

第2項 実験成績

i) 予備実験

Phage 80 型ブ菌 11 株、Phage 52/80 型ブ菌 9 株、*Staph. epidermidis* の昇汞、オキシアン、メルチオレート、マーキュロクロム、リバノール、石炭酸、ジアミトール、クロールヘキシジンに対する感受性試験の成績は表9に示す通りであつた。即ち、昇汞に対しては、80 型ブ菌の最小発育阻止濃度は 10 mcg/cc (1 株) から 50~100 mcg/cc (10 株) であり、52/80 型ブ菌では 1~50 mcg/cc、また *Staph. epidermidis* では 1 mcg/cc 以下であつた。オキシアンについては、80 型ブ菌の最小発育阻

表9 各種消毒剤感受性予備試験 (階段希釈平板法による)

発育阻止濃度	Coagl. (+) 株		<i>Staph. epidermidis</i>	発育阻止濃度	Coagl. (+) 株		<i>Staph. epidermidis</i>
	80型	80/52型			80型	80/52型	
昇汞	100	7	0	リバノール	100	11	9
	75	1	0		75	0	0
	50	2	1		50	0	0
	25	0	3		25	0	0
	10	1	3		10	0	0
	1	0	2		1	0	0
0.5	0	0	14	0.5	0	0	
オキシアン	100	0	0	石炭酸	100	11	8
	75	0	0		75	0	1
	50	0	0		50	0	0
	25	9	2		25	0	0
	10	4	0		10	0	0
	1	0	3		1	0	0
0.5	0	0	10	0.5	0	0	
チメロサル	100	11	8	ジアミトール	100	0	0
	75	0	0		75	0	0
	50	0	0		50	0	0
	25	0	0		25	0	0
	10	0	0		10	1	0
	1	0	0		1	9	8
0.5	0	0	0	0.5	1	1	
マーキュロクロム	100	10	5	クロールヘキシジン	100	0	0
	75	1	2		75	0	0
	50	0	1		50	0	0
	25	0	0		25	0	0
	10	0	0		10	1	2
	1	0	0		1	10	7
0.5	0	0	0	0.5	0	0	

Coagl. (+) : 80 型 11 株
80/52 型 9 株
Staph. epidermidis 型 20 株

止濃度は 10~25 mcg/cc で 25/80 型ブ菌は 1~25 mcg/cc, *Staph. epidermidis* では 1 mcg/cc 以下であった。

メルチオレートでは, 80 型ブ菌 100 mcg/cc, 52/80 型ブ菌 100 mcg/cc, *Staph. epidermidis* 100~25 mcg/cc と大差なく, 同様にマーキュロクロームでも 80 型ブ菌 100~75 mcg/cc, 52/80 型ブ菌 100~50 mcg/cc, *Staph. epidermidis* 100~10 mcg/cc であった。

リパノールについても, 前の有機水銀剤の 2 剤と略々同様に 80 型ブ菌 100 mcg/cc, 52/80 型ブ菌 100 mcg/cc, *Staph. epidermidis* 100~10 mcg/cc の最小発育阻止濃度を示した。このようにメルチオレート, マーキュロクローム, リパノールの 3 者では Phage 80 型, 52/80 型ブ菌のすべてが高い最小発育阻止濃度を示したのに対し *Staph. epidermidis* が比較的低い濃度でも発育を阻止されるものが多かったことは興味がある。石炭酸では 100 mcg/cc, デアミトールでは 1 mcg/cc, クロールヘキシジンでは 10~1 mcg/cc ですべてがその発育を阻止され, Phage 80 型および 50/80 型ブ菌と *Staph. epidermidis* の間には差を認めなかつた。尚この実験と同時に同様の方法で, 本学細菌学教室より分与された 209 P 株について消毒剤感受性試験を行なつた成績は次のようである。即ち 209 P 株における各種消毒剤の最小発育阻止濃度は, 昇汞 5 mcg/cc, オキシアン 1 mcg/cc, マーキュロクローム 100 mcg/cc, メルチオレート 0.5 mcg/cc, リパノール 100 mcg/cc, 石炭酸 75 mcg/cc, デアミトール 1 mcg/cc, クロールヘキシジン 1 mcg/cc であった。

ii) 実験成績

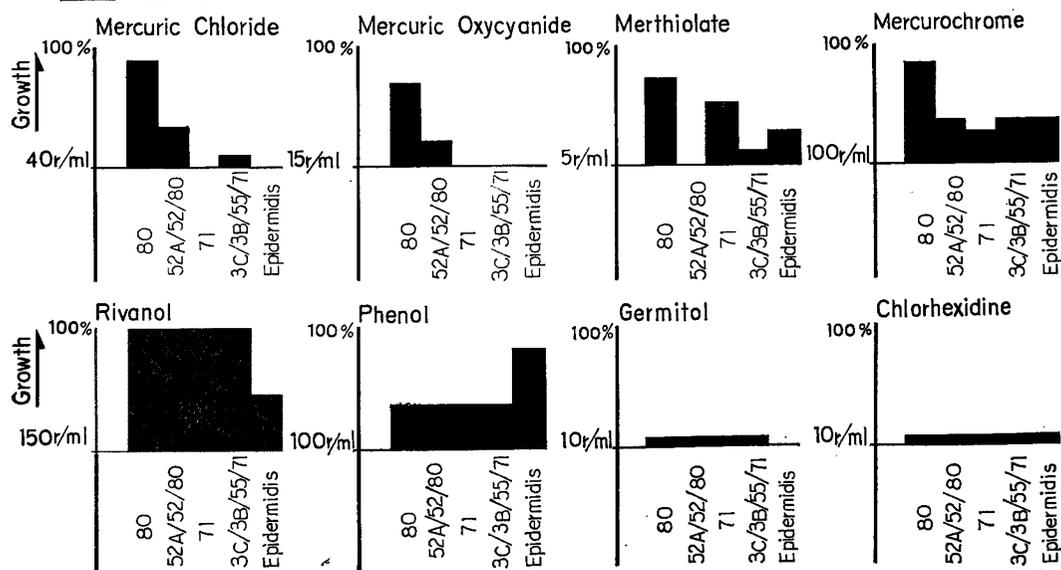
予備実験によつて得られた成績から, 昇汞では 40 mcg/cc 以上の濃度で発育するものと, それ以下の濃度で発育を阻止されるものに分け, Coagl. 陽性ブ菌では, 80型ブ菌, 52A/52/80 型ブ菌, 71 型ブ菌, 3C/30/55/71 型ブ菌の昇汞感受性を, また *Staph. epidermidis* のそれも同時に検討した。

それらの結果は図 6 に示す如く, 昇汞 40 mcg/cc では 80 型ブ菌の 88% は発育し, 52A/52/80 型ブ菌 33%, 71 型ブ菌 0, 3C/3B/55/71 型ブ菌 11% の発育を見たが, *Staph. epidermidis* は全く発育を阻止された。オキシアンでは 15 mcg/cc を基準に同様の検討を行つたが, 80 型ブ菌 67%, 52A/52/80 型ブ菌の 20% は発育し, 71 型ブ菌, 3C13B/55/80 型ブ菌, および *Staph. epidermidis* は全く発育を阻止された。メルチオレートでは 5 mcg/cc の濃度について検討し, 80 型ブ菌の 69%, 71 型ブ菌の 50%, 3C/3B/55/71 型ブ菌 11%, *Staph. epidermidis* の 32% は発育したが 52A/52/80 型ブ菌は全く発育しなかつた。次に, マーキュロクロームの 100 mcg/cc では, 80 型ブ菌 80%, 52A/52/80 型ブ菌 33%, 71 型ブ菌 25%, 3C/3B/55/71 型ブ菌 33%, *Staph. epidermidis* の 32% が発育した。

リパノールでは 100 mcg/cc で検討したが, 80 型ブ菌, 52A/52/80 型ブ菌, 71 型ブ菌, 3C/3B/55/71 型ブ菌の 100% が発育し, *Staph. epidermidis* の 57% が発育を阻止された。

図6 Phage Type と消毒剤感受性

■ 発育



石炭酸では、Coagl. 試験陽性ブ菌のすべては 100 mcg/cc で 40% が発育し、Coagl. 陽性ブ菌間では感受性の差が見られなかつたが、*Staph. epidermidis* の 80% が発育した。ジアミトール、クロールヘキシンゲンでは、被験株のいずれの間にも、感受性に大きな差異が見られなかつた。

以上の実験成績から無機水銀系消毒剤である昇汞は 40 mcg/cc、オキシアンは 15 mcg/cc でブ菌の著明な撰択的発育阻止作用を示し、メルチオレイト、マキニョクロームなどの有機水銀剤あるいは色素剤であるリパノールにもある程度この様な作用を有する傾向があり、石炭酸、ジアミトール、クロールヘキシンゲン等の消毒剤には、この様なブ菌の撰択的発育阻止作用はないことが明らかになつた。

第3項 抗生剤多剤耐性と昇汞抵抗性

本実験に供された Coagl. 陽性 Phage 80 型ブ菌 35 株並びに 52A/52/80 型ブ菌 16 株について、昇汞抵抗性と抗生剤、耐性との関係を検討したが、表 10 のごとく、

表 10 多重耐性と消毒剤感受性
(Mercuric chloride 40 mcg/cc に於いて)
抗生剤 (PC·SM·TC·CP·EM)

	感受性菌	単独耐性	2重耐性	3重耐性	5重耐性	合計
80 Type {	阻 止	0	2	1	0	5
	発 育	3	7	8	11	
52A/52/80 Type {	阻 止	2	2	3	3	10
	発 育	2	1	1	2	
						6(37%)

35株の Phage 80 型ブ菌にその多剤耐性の割合とは無関係に、30株、即ち 88% が 40 mcg/cc 以上の昇汞を含有する培地上で発育し、52A/52/80 型ブ菌においても前者と同様に、抗生剤多剤耐性と無関係に 16 株中の 6 株 37% が発育している。したがつて、本実験の成績からは、抗生剤多剤耐性と昇汞抵抗性の間に密接な平行関係を認めることは出来ず、抗生剤感受性の 7 株中 5 株が 40 mcg/cc の昇汞に抵抗性であつたことから、昇汞抵抗性は抗生剤耐性とは本質的には無関係で、Phage 80 型ブ菌に特に頻度の高い、ブ菌の特有な生物学的性状ではないかと推測される。

第4節 小括並びに考按

すでに第1篇、第3章に述べた如く病院は疫学的に半ば外界からは閉鎖された状態にあると言える。病院内において、医療担当者、患者、付添婦等の鼻腔、口腔内あるいは、化膿創の中には、空中飛沫、塵埃、手指、衣服、器具、医用材料等を介してブ菌の交叉感染、もしくは交差せる転播が絶えず起り、彼等の間には病院ブ菌の epi-

demiological cycle が形成されておると言う事実は、多くの報告が認めておるところである (WILLIAMS¹⁾, EL-ECK⁴⁰⁾, ROUNTREE⁴¹⁾, SPINK⁴⁾, ROBERTSON⁴²⁾, 石井(良)⁴³⁾。しかもその Cycle を助長する因子として、病院は他の外界とは異なつた条件を備えている。即ち、化膿創をもつ者、感染に対して抵抗力の弱い患者などを多数収容し、あるいは抗生剤投与の機会が多く、消毒剤を多量に使用すること等が挙げられる。

著者が広大付属病院内におけるブ菌を疫学的に追及した成績により Phage 80 に溶菌される抗生剤多剤耐性のブ菌株が、同病院内の医療担当者、あるいは患者間の epidemiological cycle を構成しておる事が明かになり、またこの様な Phage 80 型ブ菌が病院ブ菌として各地の病院内で増加の傾向があり、且つ高度の抗生剤耐性を示す点が注目されておることなどを第1篇に述べた⁴⁴⁻⁴⁹⁾。

さて、病院内に抗生剤耐性ブ菌を増加させる因子として現在明らかであるものは、次の3つの因子であると思う。

即ち、1) 抗生剤微量散布に基づく感受性ブ菌の淘汰、2) 直接抗生剤投与に基づく感受性ブ菌の淘汰、3) 特定 Phage による耐性伝達と言う因子がそれである。

第1の因子について、本章の始めに述べた如く、GOLD³⁹⁾ は、患者に対して PC の投与が行なわれている病室、あるいは処置室の空気中から、100 cft. あたり 0.4 ~ 35.0 μ g の PC を検出し、この結果から、病院内環境に散布された微量の PC の存在は、患者への PC 投与の有無を問わず、PC 耐性ブ菌の交叉感染を助長せしめ、同時に病院内の PC 耐性ブ菌鼻腔内保菌者数の増加を来たす重要な因子であると給論しておる。

第2の因子は、抗生剤本来の性質に基づくものである。即ち、抗生剤の投与中創内あるいは鼻腔内で耐性ブ菌が優位を占める様になることは容易に考え得ることであるが、SPINK^{2), 3)} は彼の病院の TC 使用量の増加と病院内で分離されるブ菌の TC 耐性頻度が非常に密接な平行関係を示すことからこの因子を説明しておる。

第3の因子は、RITZ, BALDWIN⁴⁹⁾ 等が試験管内で、Phage 80, 42B, 47C, 52 などによりブ菌の Penicillinase 産生能を導入 (Transduction) によつて、Penicillinase 産生菌から非産生菌へと移すことが出来ることを発見して以来、PATTEE⁵⁰⁾, 秋山⁵¹⁾, 桑原⁵²⁾, 樋口⁵³⁾ などにより多くの抗生剤耐性が、Phage 特に Phage 80 81 によつて導入可能であることが証明された。しかし、生体或は病院内でのブ菌の導入による、耐性の伝達は未だ立証されていないが、秋葉⁶¹⁾ が言う様にその可能性は大いにあると考えられる。

これ等の諸因子はそれぞれ独立して存在するものでは

なく、複雑にからみ合つて、病院内ブ菌叢の構成に与つているのであろうと言う事は容易に理解できる。

本章第1節に述べた如く手術室勤務の看護婦の鼻腔内 Phage 80 型ブ菌保菌率は外科および内科病棟に常勤する看護婦のそれよりも常に高くなつてゐるが、前記の3つの因子ではその理由を説明することはできない。殊に特定環境内に微量散布された抗生物質により鼻腔内感受性ブ菌が淘汰される為であるとすればその結果は全く逆の筈である。

何となれば、手術室では比較的少量の抗生剤が時に用いられるにすぎず、却つて外科病棟では常時大量の抗生物質が使用されているからである。

しかし、手術室では抗菌性薬剤として消毒剤が盛んに用いられ、常時大量の昇汞、オキシアンおよびメルチオレイト等の水銀系消毒剤が使用されておるが、外科病棟等ではその量が極く僅かである。

従つてこの消毒剤、特に手術室で大量に用いる水銀系消毒剤が、看護婦の鼻腔内ブ菌の淘汰に関与するのではなからうかと言ふ疑問が起つてくる。

消毒剤に対しても一部のブ菌が耐性を示すことは、ALTMAN, ABOTT⁶¹⁾が Phenol, HgCl₂ 耐性ブ菌について記載して以来、BERGER & WYSS⁶⁴⁾、田中⁶⁵⁾等の報告があり、また真野⁶⁶⁾は人工的 HgCl₂ 耐性ブ菌の Coagulase 作用に関して発表しておる。Phage 80 型、52/52A/80 型ブ菌の多くが昇汞耐性であることを最初に言い出したのは B. MOORE⁶⁷⁾(1960) であるが、徐⁶⁷⁾他、上村⁶⁸⁾、⁶⁹⁾他、蜂須賀⁶⁹⁾他も Phage 80, 52/52A/80 型ブ菌が昇汞やオキシアンに強い抵抗性を示すと言ひ、有機水銀剤であるメルチオレイトに対しては、他のブ菌とその最小発育阻止濃度の点では差が不明確であつたと称しておる⁶²⁾。

著者は実験により上述の事実を確認したが、更に有機水銀剤であるマーキュロクロムや色素剤リバノールに対しても抵抗性の大きい株が、Phage 80, 52/52A/80 型ブ菌株の中に存在する事実を認めた。

また水銀を示標として病院内環境に微量の消毒剤が散布されていることを立証し、しかも消毒剤の使用量によつて、その分布に相違があり、手術室と外科病棟や内科病棟では空中および塵埃内の水銀量が大きに異なることを確めた。これ等の事実から、昇汞、オキシアン、その他有機水銀系消毒剤の一部、リバノール等が使用される場所の空中や塵埃内に微量ではあるが含まれ、それが漸次濃度を増し、特に手術室に常勤する看護婦の鼻腔内に於いて、消毒剤に感受性のあるブ菌を淘汰し、これに強い耐性をもつブ菌、即ち Phage 80 型、52A/52/80 型ブ菌などが生残り、その結果として手術室勤務看護婦の鼻

腔内 Phage 80 型ブ菌保菌率が上昇したものと考えられる。

しかも、Phage 80 型、52A/52/80 型ブ菌は他の Phage 型ブ菌に較べると多剤耐性であることが多いが、本実験では昇汞抵抗性と多剤耐性ととの間に、B. MOORE⁶⁷⁾、蜂須賀⁶⁹⁾、西村⁸⁴⁾等の言う様な密接な相関関係は認められなかつた。

以上の実験成績から、一定環境内に散布された微量の消毒剤は病院内に於ける Phage 80, 52A/52/80 型ブ菌の増加を促すので、先に述べた3つの因子⁶¹⁾と共に重要な1因子と考えたい。

結 論

(1) 病院内空中ブ菌から Phage 80 型ブ菌を分離するには、10 mcg/cc 昇汞加寒天平板培地が最適である。

(2) ASHESHOV の鼻腔内 Phage 80 型ブ菌迅速同定法を改良して、Phage 80 型ブ菌を一層選択的に、簡単に且つ正確に把握することに成功した。

(3) (1), (2) の検査法により調査し、新築病棟に於いても、患者収容後3週間目に略々固定した病院ブ菌叢が成立することを確認した。

また病院内医療担当者および入院患者の鼻腔内 Phage 80 型ブ菌保菌率は 65.6% から 23.3% の間にあることを知つた。

(4) 看護婦鼻腔内 Phage 80 型ブ菌保菌率は勤務部署により異なり、外科病棟では 38.3%、内科病棟では 23.5%、手術室のものでは 75% で最高値を示した。

(5) 病院内空中水銀量を Dithizone 法で定量した結果、最も多く水銀系消毒剤を使用する手術室空中からは平均 51.99 mcg/m³ が検出され、外科病棟では 21.33 mcg/m³ にすぎず、内科病棟では検出不能であつた。この事実から消毒剤を使用すれば、微量乍ら空中に散布されることを知つた。

(6) Phage 80 型ブ菌の 88% は 40 mcg/cc 昇汞に抵抗性があり、*Staphylococcus epidermidis* はすべて同濃度で完全にその発育が阻止された。15 mcg/cc オキシアンも略々同様の選択性を示したが、5 mcg/cc メルチオレイト、100 mcg/cc マーキュロクロムおよび 100 mcg/cc リバノールでは僅かに選択の傾向が窺われるにすぎなかつた。

(7) 石炭酸、ジアミトール、クロールヘキシジンでは(6)の様なブ菌の感受性の差は全く見られなかつた。

(8) Phage 80 型ブ菌の昇汞抵抗性と抗生剤多剤耐性との間には本質的な相互関係は認められなかつた。

(9) (4)~(8)の事実から或る特定環境内に散布された微量の消毒剤が病院内に於ける Phage 80 型、52A/52/80 型ブ菌の増加を促す重要因子の1つになり得ると結

論した。

要するに、病院内ブ菌交感染を防止するためには病院内環境を細菌学的に清潔に保つことが理想であるが、本篇の結論から言い得ることは Phage 80 型や 52A/52/80 型ブ菌の鼻腔内保菌率をたかめるような消毒剤 (昇汞、オキシアン) 等の使用を禁止し、また抗生物質の使用時には出来るだけそれが空中に撒布されないように注意することであると思う。

(稿を終えるに当り終始御懇篤な御指導と、御校閲を賜った恩師 上村良一教授に深甚なる感謝の意を捧げます。尚種々御助言を戴いた現原研 岩森助教授、並びにフージ液を分与下さった国立予研 福見部長、羽深先生並びに御協力下さった教室員各位に感謝します。)

本研究の一部は昭和 38 年度文部省科学研究費 (各個研究) によつたことを付記する。

文 献

- 1) WILLIAMS, R. E. O., BLOWERS, R., GARROD, L. P., SHOOTER, R. A., . Hospital infection, causes and prevention. Lloyd-lucke (Medical books) Ltd., London, 1960.
- 2) SPINK, W. W.: Staphylococcal infections and problem of antibiotic-resistant staphylococci. Arch. Int. Med., 94, 167~196, 1955.
- 3) SPINK, W. W. The clinical problem of antimicrobial resistant staphylococci Ann. New York Acad. Sci., 65, 175~190, 1956.
- 4) SPINK, W. W., HALL, W. H., and FERRIS, V.: Clinical significance of staphylococci with natural or acquired resistance to sulfonamides and to penicillin. J. A. M. A., 128, 555~559, 1945.
- 5) MOORE, B.. A new screen test and selective medium for the rapid detection of epidemic strains of *Staphylococcus aureus*. Lancet, ii, 453~458, 1960.
- 6) ASHESHOV, E. H.: A rapid screening test for phage-type staphylococci. J. Path. Bact., 81, 543~547, 1961.
- 7) WILLIAMS, R. E. O., & RIPPON, J. E.: Bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*. J. Hyg. (Lond.) 50, 320~353, 1952.
- 8) WILLIAMS, R. E. O., & RIPPON, J. E., with DOWSETT, L. M.: Bacteriophage typing of strains of *Staphylococcus aureus* from various sources. Lancet, i, 510~514, 1953.
- 9) 福見秀雄: ブドウ球菌の型別法とその臨床的応用, 特 2, 166~176, 1955.
- 10) 石井哲也: 教室に於けるブドウ球菌 Phage Typing に就いて. 原著広島医学, 9 (3. 4), 1233~1235, 1961.
- 11) CHAPMAN, G. H.: The significance of sodium chloride in study of staphylococci. J. Bact., 50, 201~203, 1945.
- 12) CHAPMAN, G. H.: A single culture medium for selective isolation of plasma-coagulating staphylococci and for improved testing for chromogenesis, plasma coagulation, mannitol fermentation, and the Stone reaction. J. Bact., 52, 409~410, 1946.
- 13) CHAPMAN, G. H.. An improved Stone medium for the isolation and testing of food-poisoning staphylococci. Food. Res. 13, 100~105, 1948.
- 14) 桑原章吾: ブドウ球菌とその感染症(1) ブドウ球菌の生物学とその分類. 医学のあゆみ, 35(8), 414~419, 1960
- 15) DARANYI, J. VON: Pathogenität und Einteilung der Staphylokokken Zbl. Bakt. IAbt., 99, 74~79, 1926.
- 16) DARANYI, J. VON Über den Nachweis der Pathogenität der Staphylokokken. Zbl. Bakt. IAbt., 134, 13~14, 1935.
- 17) CHAPMAN, G. H., BERENS, C., PETERS, A., & CURCIO, L. G.: Coagulase and hemolysin tests as measures of the pathogenicity of staphylococci. J. Bact., 28, 343~363, 1934.
- 18) FISHER, A. M.: The plasma coagulating properties of staphylococci. Bull. Johns Hopkins Hosp., 59, 393~414, 1936.
- 19) CRUICKSHANK, R.: Staphylocoagulase. J. Path. Bact., 45, 293~303, 1937.
- 20) FAIRBROTHER, R. W.: Coagulase production as a criterion for the classification of the staphylococci. J. Path. Bact., 50, 83~88, 1940.
- 21) KLEMPERER, R. & HAUGHTON, G.. A medium for the rapid recognition of penicillin-resistant coagulase-positive Staphylococci. J. Clin. Path., 10, 96~99, 1957.
- 22) DENEKE, A. & BLOBEL, H.. Fibrinogen media for studies on staphylococci. J. Bact., 83, 533~543, 1962.
- 23) GORDON, J., & COOPER, K. E.: A study of the phosphorus distribution in bacterial cultures. III. Phosphatase activity in *B. coli* and *Staphylococcus*. Brit. J. exp. Path., 13, 503~508, 1932.
- 24) BARNES, E. H., & MORRIS, J. E.. A quantitative study of the phosphatase activity of micrococcus pyogenes. J. Bact., 73, 100~104, 1957.
- 25) BRAY, J. & KING, E. J.: The phosphatase reaction as an aid to the identification of microorganisms using phenolphthtralein phosphate as substrate. J. Path. Bact., 55, 315~320, 1943.
- 26) BARBER, M., & KUPER, S. W. A.: Identification of *Staphylococcus pyogenes* by the phosphatase reaction. J. Path. Bact., 63' 65~68, 1951.
- 27) STÄHELIN, H.: Die Phosphataseproduktion der Staphylokokken und ihre Beziehung zur Pathogenität. Schweiz. Z. allg. Path. Bakt., 15, 526~532, 1952.
- 28) RANGAM, C. M., & KATDARE, S. M.: Phosphatase activity of staphylococci as an indication

- of their pathogenicity. Ind. J. med. Sci., 8, 610~613, 1954.
- 29) GUPTA, S. P., & CHAKRAVARTI, R. N.; Observations on some biochemical reactions of staphylococci with special reference to coagulase and phosphatase production tests. Indian. J. med. Res., 42, 131~136, 1954.
- 30) MOHAN, R. C., PRADHAM, S. K., & MANJREKAR, P. S.: Pathogenicity of phosphates positive but coagulase-negative staphylococci. Ind. J. med. Sci., 9, 482~484, 1955.
- 31) WHITE, M. L., & PICKETT, M. J.: A rapid phosphatase test for *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* for detection of potentially pathogenic strains. Amer. J. Clin. Path., 23, 1181~1183, 1953.
- 32) GILLESPIE, W. A., ALDER, V. G.: Production of opacity in egg-yolk media by coagulase-positive staphylococci. J. Path. Bact., 64, 187~199, 1952.
- 33) 斎藤 誠, 南沢康雄, 佐藤 肇: 病院ブドウ球菌にかんする研究, フェージ 80 型ブドウ球菌について(会). J. J. A. Inf. D., 3(8), 553, 1961.
- 34) 西村忠夫, 紀田益二, 浅谷泰規: ブドウ球菌 Phage 80 型の様相とその選択培地の検討について. 小児科診療, 25(9), 119~128, 1962.
- 35) 大熊隆一郎: 新築手術室及び病棟における細菌(特にブドウ球菌)の各種薬剤耐性について. 久留米医学会雑誌, (会), 25(3, 4), 194, 1962.
- 36) SMITH, P. B.: Growth of staphylococci on mercuric chloride agar. J. Bacteriol. 84, 1014~1019, 1962.
- 37) KATZNELSON, H.: The detection of internally-borne bacterial pathogenes of beans by a rapid phage plaque count technique. Science, 112, 645~647, 1950.
- 38) 岩崎洋治: 外科領域におけるブドウ球菌蔓延の現状とその対策について(特に抗生物質との関連において). 日外会誌, 61(2), 185~209, 1960.
- 39) GOULD, J. C.: Environmental penicillin and penicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet, i, 489~493, 1958.
- 40) ELECK, S. D., and FLEMING, P. C.: A new technique for the control of hospital cross-infection. Experience with BRL 1241 in a maternity unit. Lancet, ii, 569~572, 1960.
- 41) ROUNTREE, P. M., and FREEMAN, B. M.: Infections caused by a particular phage type of *Staphylococcus aureus*. Med. J. Aust., 2, 157~161, 1955.
- 42) ROBERTSON, H. R., and SUTHERLAND, W. H.: Some aspects of hospital infection. Am. J. Surg., 92, 233~239, 1956.
- 43) 石井良治, 前田外喜男, 半谷 真, 田中健彦: 外科手術創の感染防止. 最新医学, 15(6), 73~79, 1960.
- 44) BYNOE, E. T., ELDER, R. H., and COMTOIS, R. D.: Phage-typing and antibiotic resistance of staphylococci isolated in a general hospital. Canad. J. Microbiol., 2, 346~352, 1956.
- 45) WILLIAMS, R. E. O.: Epidemic staphylococci. Lancet, i, 190~195, 1959.
- 46) NAHMAS, A. J., GODWIN, J. T., UPDYKE, E. L., and HOPKINS, W. A.: Postsurgical staphylococcal infections outbreak traced to an individual carrying phage strains 80/81 and 80/51/52/52 A. J. A. M. A., 174, 1269~1275, 1960.
- 47) ROUNTREE, P. M., and BARBOUR, R. G. H.: Nasal carrier rates of *Staphylococcus pyogenes* in hospital nurses. J. Path. Bact., 63, 313~324, 1951.
- 48) ROUNTREE, P. M., and THOMSON, E. F.: Incidence of antibiotic-resistant staphylococci in a hospital. Lancet, ii, 262~265, 1952.
- 49) RITZ, H. L., BALDWIN, J. N.; Transduction of capacity to produce staphylococcal penicillinase. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 107, 678~680, 1961.
- 50) PATTEE, P. A., BALDWIN, J. N.: Transduction of resistance to some macrolide antibiotics in *Staphylococcus aureus*. J. Bact. 84, 1049~1055, 1962.
- 51) 秋葉朝一郎: 細菌の薬剤耐性獲得の機序. Chemotherapy 11(2), 99~104, 1963.
- 52) 桑原章吾, 丹羽千鶴子, 五島瑛智子: ブドウ球菌の薬剤耐性の伝達(3) 黄色ブドウ球菌のテトラサイクリンおよびエリスロマイシン耐性のフェージ 81 および 80 による表皮ブドウ球菌への導入. Chemotherapy (会), 11(6), 399~400, 1963.
- 53) 樋口哲司, 井戸政博: 耐性ブドウ球菌に関する研究. 日外学会誌(会), 65(2), 107~108, 1964.
- 54) BERGER, H., and WYSS, O.: Studies on bacterial resistance to inhibition and killing by phenol. J. Bact. 65, 103~110, 1953.
- 55) 田中淳二: ジフェールメタンに対する細菌の耐性獲得について(1) 耐性株の性状変化について. Jap. J. of Bact. 12, 327~332, 1957.
- 56) 真野大二・川上 勝: *Staphylococcus* に関する研究, 第3報, Phenol-Hg₂Cl₂ に対する態度及び coagulase 作用について. 日本細菌学雑誌, 16, (12), 1080~1089, 1961.
- 57) 徐 慶一郎, 小出五郎: 新生児ブドウ球菌感染症に関する研究(2) 昭和 36 年肺炎の多発について. 日伝染会誌, 36(1), 14~21, 1962.
- 58) 上村良一, 石井哲也: 化膿疾患に対する化学療法の実際. 外科治療, 8(3), 1~9, 1963.
- 59) 蜂須賀養悦, 栃久保邦夫, 志水哲也: 多剤耐性黄色ブドウ球菌の各種消毒剤, 色素剤及び水銀製剤に対する感受性の研究. 名市大医誌, 12, 152~158, 1962.
- 60) 上村良一: 感染と消毒. 広島医学, 15, 1053~1055, 1962.
- 61) ELECK, S. D., FLEMING, P. C.: A new technique for the control of hospital cross-infection. Experience with BRL 1241 in a maternity unit. Lancet, 2, 7150, 569~572, 1960.
- 62) 八神喜昭: 産科領域におけるブドウ球菌の院内感染に関する研究. 名市大医誌, 14, 124~155, 1963.