

院内感染としてのメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の検討

竹末 芳生・横山 隆・児玉 節・藤本三喜夫
瀬分 均・村上 義昭・今村 祐司
広島大学第一外科教室*

(昭和 63 年 8 月 12 日受付)

院内感染において、メチシリン耐性 *S. aureus* (MRSA) は重要な位置を占めている。そこで、当科において 1983 年より 1988 年 4 月までに臨床より分離された 214 株ならびに手術場の浮遊、落下、付着細菌 62 株の *S. aureus* を対象とし、コアグララーゼ型別分類を中心に MRSA の検討を行なったので報告する。

病棟分離株の検討では、メチシリン高度耐性株 (MIC > 100 $\mu\text{g/ml}$) は 1983 年には認められなかったが、その後急増し、1987 年には MRSA (MIC $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$) の約 60% を占めていた。しかし医療従事者が MRSA が流行していることを認識し、病棟での消毒をクロールヘキシジン・アルコール溶液に変えるなど院内感染対策を行なったところ、1988 年にはメチシリン高度耐性株並びに MRSA は激減した。コアグララーゼ型の検討では MRSA は 1984 年まではコアグララーゼⅣ型が主であったが、1986 年以降Ⅱ型の耐性株がほとんどを占めるようになった。

このコアグララーゼⅡ型 MRSA の特徴は、メチシリンやその他の β -ラクタム剤に対し高度耐性化すること、ペニシリナーゼを高度に産生する株が少ないこと、MINO やビリドンカルボン酸系薬剤に感受性を示すこと、また最近 GM 感受性、AMK 耐性株が流行していることであった。

手術場においては、全株 MSSA であり、またコアグララーゼ型による検討ではⅦ型が手術場における流行株と推察され、当科におけるⅡ型 MRSA の交叉感染の場は病棟であると考えられた。

Key words : メチシリン耐性黄色ブドウ球菌, 院内感染症, コアグララーゼ型別分類

メチシリン耐性 *S. aureus* (以下 MRSA) 感染は、コアグララーゼ型の検討による病棟における流行株に関する報告^{1,2)}ならびに医療従事者における carrier の存在の可能性³⁾など、院内感染症として扱うことに異論はないと考える。また最近メチシリン高度耐性株も出現しており治療に難渋することも少なくない。

そこで院内感染症としての MRSA における第一の問題点として、特に手術を主たる治療手段とする外科領域においては MRSA による交叉感染がどの場所で起こっているのか、第二にその場所を想定しえたなら、交叉感染防止に如何なる対策を立てればよいかということが問題となってくる。そこで我々は術後に発生している MRSA 感染の場が、手術場か病棟かの問題を考えると共に、院内感染対策を講じることにより、MRSA の発生そのものを抑えることが可能か否か、について検討を行なったので、若干の文献的考察を加え報告する。

I. 材料と方法

1) 対象とした菌株

当科において 1983 年より 1988 年 4 月までに病棟から分離された 214 株ならびに 1988 年における手術場の浮遊、落下、付着細菌 62 株を対象とした。なお、耐性パターンが同じ場合一患者当り一株として検討を行なった。病棟分離株の由来は腹腔ドレーン 153 株、皮膚軟部組織 27 株、喀痰 20 株、血液 8 株、尿 4 株、胆汁 2 株であった。

2) 薬剤感受性の測定

日本化学療法学会の標準法⁴⁾に従い、MCIPC, CMZ, IPM, AMK, GM, MINO, OFLX を用い行なった。DMPPC に対する MIC $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$ を MRSA, $>100 \mu\text{g/ml}$ をメチシリン高度耐性株とした。なお、培養温度は 37°C で、菌の保存はクックドミート培地を使用し、2 カ月毎に感受性測定を行なった。

3) コアグララーゼ型別分類

被検菌をハートインフュージョン培地 (栄研 KK) に 37°C, 3 日間培養後、3,000 rpm, 30 分間遠心して菌体を除き上清 0.1 ml を採取、これに I 型からⅦ型までの

* 広島市南区霞 1-2-3

コアグラゼ型別血清を加え 37℃, 1時間加温後, 10倍希釈ウサギ血漿を 0.2 ml 混合し再び加温した。血漿凝固を阻止している管が1つになるまで反応を続け, その管の抗血清型をもって被検菌のコアグラゼ型とした。

4) β-ラクタマーゼ判定試験

アンドメトリーディスク法に従って行なった。すなわち PC-G, CEZ を基質とした β-ラクタマーゼ検出用ディスク (日本生物材料センター製) をもちい, それぞれのディスク上に pH7.0, 0.01 モル燐酸塩緩衝液 30 μl を滴下したのち, 検体から分離培養された被検菌のコロニーをディスク上に塗布し, 15~30 分後に黄色に変色したディスクにより β-ラクタマーゼ産生の有無を判定した。なお本法は, ニトロセフィン法に比し低感度のため, 陽性の場合には高度産生株, 陰性の場合には低度・非産生株と判定した。

II. 成 績

1) MRSA ならびにメチシリン高度耐性株における年次推移と各種薬剤に対する感受性

MRSA は *S. aureus* の 64% であった。メチシリン高度耐性株は, 1983 年には認められなかったが, その後急増し, 1987 年には MRSA の 60% を占めていた。しかし 1987 年秋より患者の皮膚消毒を可及的にクロールヘキシジン・アルコール溶液に変えるなどの院内感染対策を行ない, 1988 年には MRSA ならびにメチシリン高度耐性株は激減した (Fig. 1)。

メチシリン高度耐性株の各種抗生剤に対する感受性分布では, CMZ, MCIPC, IPM, AMK に対しては, 耐性を示し, 一方 MINO, OFLX, GM の一部においては, 良好な感受性を示した (Fig. 2)。

2) MRSA におけるコアグラゼ型の検討

MRSA におけるコアグラゼ型の年次推移では,

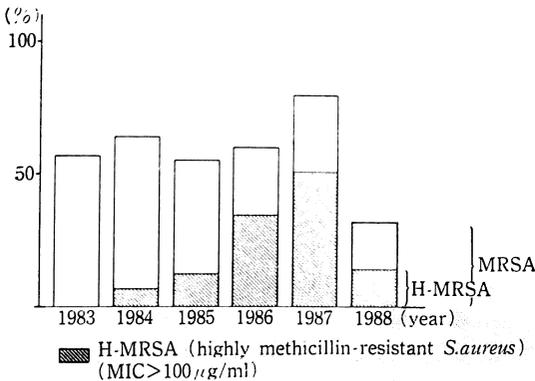


Fig. 1. Annual changes in isolation rate of MRSA and H-MRSA to total *S. aureus* strains

1983 年は全株Ⅳ型であったが, その後Ⅱ型が急増し, 1986 年以降は, Ⅱ型がほとんどを占めた (Fig. 3)。

S. aureus 全体においてもⅡ型は, 1986 年, 1987 年は 80% 以上を占めていたが, 1988 年は, Ⅳ型 54.5%, Ⅱ型 27.3%, Ⅲ型, Ⅷ型各 9.1% でありⅡ型の分離頻度の低下が顕著であった。1988 年に分離された *S. aureus* の半分以上を占めたⅣ型は全て院外における感染例で, 91.7% がメチシリン感受性株 (MSSA) であった。

ペニシリンゼ高度産生株は, コアグラゼⅣ型 MRSA (n=31) は 80.6% とⅡ型 MRSA (n=100) の 40.0% に比し有意に高率であった (p<0.01) (Fig. 4)。

DMPPC に対してはⅡ型 MRSA はⅣ型 MRSA に比し高度耐性化した。MINO, OFLX に対しては逆にⅡ型において良好な感受性を示した (Fig. 5)。

アミノ配糖体の検討では, 1986 年後期よりⅡ型の GM 感受性 AMK 耐性株が流行しており, GM の約 10% において良好な感受性を示した。GM の残り 60% ならびに AMK においては, Ⅱ型 MRSA においてもⅣ型 MRSA と同様な耐性化が認められた (Fig. 6)。

3) 手術場ならびに病棟から分離された *S. aureus* の

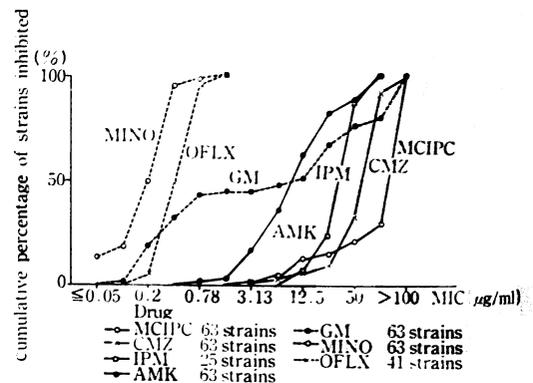


Fig. 2. Susceptibility distribution of highly methicillin-resistant *S. aureus*. (MIC > 100 μg/ml). (10⁸ cells/ml)

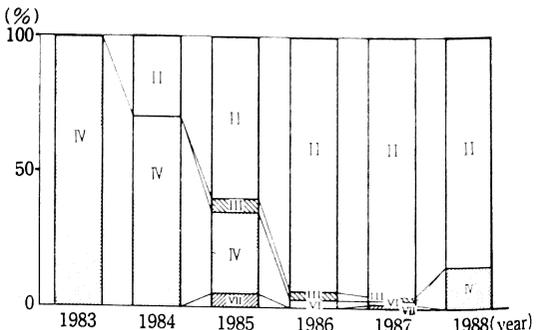


Fig. 3. Annual changes in coagulase types of MRSA

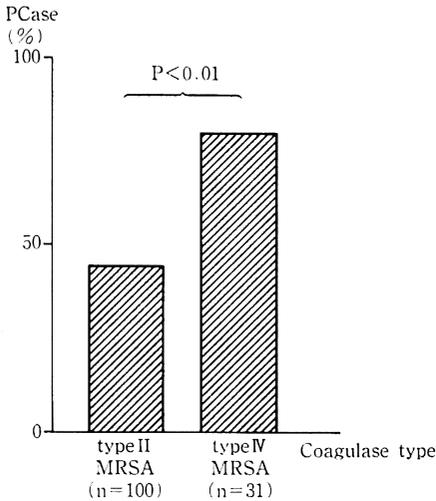


Fig. 4. Isolation rate of highly penicillinase-producing strains of coagulase type II and IV MRSA

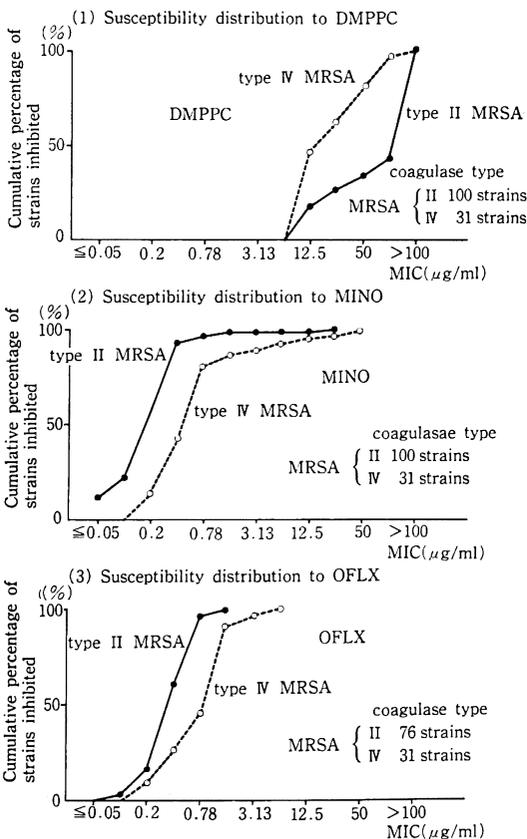


Fig. 5. Susceptibility of coagulase type II and IV MRSA

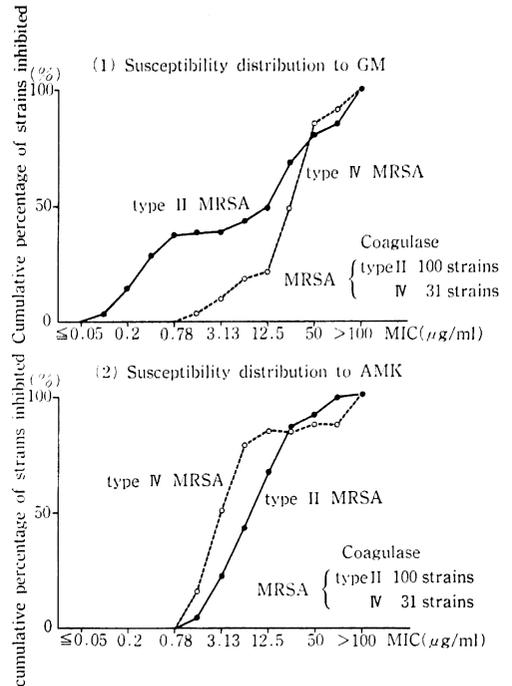


Fig. 6. Susceptibility of coagulase type II and type IV MRSA to aminoglycosides (10^8 cells/ml)

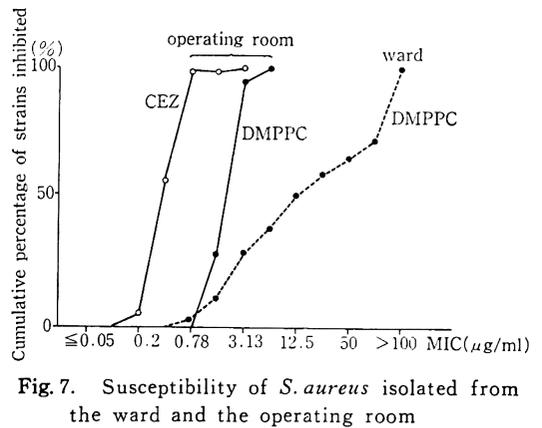


Fig. 7. Susceptibility of *S. aureus* isolated from the ward and the operating room

比較

手術場と病棟における *S. aureus* の検討では、手術場においては全株 MSSA であったが、ペニシリナーゼ高度産生株がほとんどを占め、病棟分離株と有意の差を認めた ($p < 0.01$) (Fig. 7, 8)。

コアグラーゼ型別の検討では、病棟においてはⅡ型、Ⅳ型が流行株であったのに対し、手術場ではⅥ型が約 60% を占めていた (Fig. 9)。

III. 考 察

院内感染を扱うに当たって、一つの問題点として、検

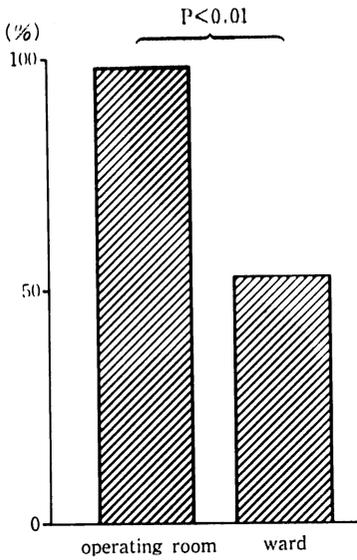


Fig. 8. Isolation rate of highly penicillinase-producing *S. aureus* strains

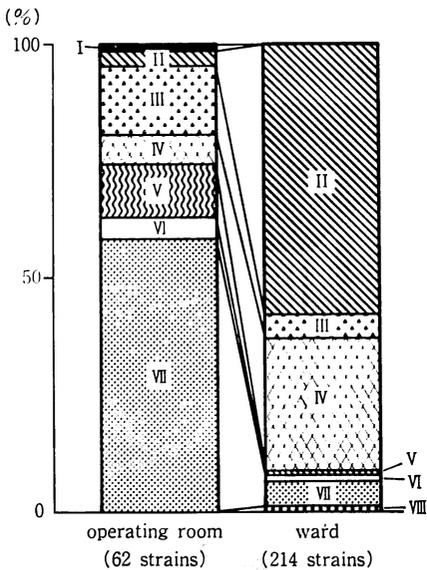


Fig. 9. Coagulase types of *S. aureus* in the ward and the operating room

出された感染菌が院内で感染したか否か証明することの難しさがあげられる。そのためには数年にわたる疫学的調査による、対象とした細菌の流行型の把握が必要と考える。

たとえば当科における *S. aureus* の検討では、以前は IV型が流行しており、1986 年以降 II型がそれに変わり流行型となり *S. aureus* の 80% 以上を占めるようになったが、1988 年には 27.4% と顕著な減少を示し、逆に

II型が半数以上を占めるようになった。

この現象についてさらに検討を行なうと、1988 年に分離された II型は 全例院外での感染例で、ほとんどが MSSA であり、院内感染として流行したものではない事が推察された。

また II型の分離頻度の減少は、MRSA とくに II型のメチシリン高度耐性株が当科で流行していたのに対し、本菌における消毒剤耐性が指摘されていることから⁹⁾、1987 年秋より患者の削の消毒を可及的にポビドンヨードからクロールヘキシジン・アルコール溶液に変更し、医療従事者におけるガーゼ交換など処置時における注意、手洗いの励行ならびにスプレー式クロールヘキシジン・アルコール溶液の使用、ICU における床のアルコール消毒、等を行なうとともに、MRSA の流行に対する認識を高め、院内感染対策を行なったことによると考えた。

MRSA 流行の元凶と考えられている第三世代セフェム剤⁹⁾の現在における我々の予防的抗生剤としての考え方は、compromised host でグラム陰性桿菌による感染が予想される症例に対してはこれを用い、適応のない症例に対する使用や、漫然と長期使用することを避けるといように、MRSA 流行以前と比べて特別な規制は行っていない。長期間の第三世代セフェムの頻用により PBP の変異を起こす機会を *S. aureus* に与えたという歴史があるのであるから⁹⁾、短期間本剤の使用を規制したからといって効果を望むことはできず、なんらかの他の院内感染対策を行ない、現在流行している MRSA を抑えることが重要である。しかし新たな MRSA 流行を防ぐ意味で第三世代セフェムの頻用を控える必要があることは今更述べるまでもない。

最近の病棟における流行株であるコアグラセ II型の特徴はメチシリンなどの β -ラクタム剤に高度耐性化すること、ペニシリナーゼ高度産生株が少ないこと、MINO、ピリドンカルボン酸系薬剤に高い感受性を示すこと、1987 年以降 GM 感受性 AMK 耐性株が流行していることである。

ここでアミノ配糖体系薬剤は蛋白合成阻害剤であり PBP (penicillin-binding protein) の変異は直接は感受性の変化に関与しないが、MRSA におけるアミノ配糖体修飾酵素の産生に関しては以前から注目されている⁷⁾。当科において GM 感受性 AMK 耐性株が流行しているが、野々原⁷⁾が最初と同様な感受性の株を報告しており、この株が比較的古くから存在していた GM 耐性型の不活化酵素を産生せず、TOB、AMK を基質とする 4', 4''-アデニル転移酵素を産生するためと推察している⁷⁾。また生方⁸⁾は遺伝子 map の検討から、

MRSA において PBP 2' 遺伝子ならびに 4' 4"-アデニル転移酵素産生 (TOB 耐性) 遺伝子が近位に存在することを証明している。

さらに院内感染症として MRSA をとらえるため、医療環境の異なる手術場と病棟から分離された *S. aureus* について比較検討を行なったところ、手術場においては MRSA は分離されず、コアグラマーゼ型においてはⅥ型が流行しており、MRSA による交叉感染の場は手術場ではなく病棟であると考えられた。

また、手術場においてペニシリン高度産生株がほとんどを占め、病棟分離株と有意の差を認めたが、これは最近の病棟における流行株であるコアグラマーゼⅡ型は PBP の変化が耐性化の機序として前面に出ており、ペニシリナーゼを高度に産生しないにもかかわらず流行型として残ることが可能であったのに比し、現在手術場においては、ペニシリナーゼによる耐性化が主であることが推察され、10 数年前の病棟における傾向と類似していると考えた。

なお本論文の要旨は、第 36 回日本化学療法学会総会にて発表した

結 語

1. MRSA を院内感染症と捉え当科において 1983 年より 1988 年 4 月までの臨床分離株、並びに手術場から分離された *S. aureus* を対象とし検討を行なった。

2. MRSA とくに当科で流行しているコアグラマーゼⅡ型のメチシリン高度耐性株に対し、1987 年秋より院内感染対策を行なったところ、1988 年には同株の著減を認めた。

3. 手術場においては、全株 MSSA であり、またコ

アグラマーゼによる検討ではⅥ型が手術場における流行株と推察され、MRSA による交叉感染の場は病棟であると考えられた。

文 献

- 1) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 渡辺貴和雄, 永武毅, 力富直人, 高橋淳, 鈴木寛: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌 第 3 報 コアグラマーゼ型の分類における検体別, 地方別, 施設別検討及び薬剤感受性成績. *Chemotherapy* 32: 527~533, 1984
- 2) 島田 馨: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA). *日臨* 44: 2112~2121, 1986
- 3) CRAVEN D E: A large outbreak of infection caused by a strain of *Staphylococcus aureus* resistant to oxacillin and aminoglycosides. *Am. J. Med.* 71: 53~58, 1981
- 4) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について. *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 5) MYCOCK G: Methicillin antiseptic resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 26: 949~950, 1985
- 6) 横田 健: メチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌—基礎篇—. *感染・炎症・免疫* 14: 87~97, 1984
- 7) 野々口律子, 後藤 朗, 山下直子, 生方公子, 紺野昌俊, 川上小夜子: 4', 4"-アデニル転移酵素を産生する黄色ブドウ球菌の分離状況について. *Chemotherapy* 32: 89~98, 1984
- 8) 生方公子, 紺野昌俊, 野々口律子, 松橋通生, 宋浪東: 第 36 回日本化学療法学会総会講演抄録: 172, 1988

METHICILLIN-RESISTANT *S. AUREUS* (MRSA) IN NOSOCOMIAL INFECTIONS

YOSHIO TAKESUE, TAKASHI YOKOYAMA, TAKASHI KODAMA,
MIKIO FUJIMOTO, HITOSHI SEWAKE, YOSHIAKI MURAKAMI
and YUUJI IMAMURA

First Department of Surgery, Hiroshima University School of Medicine,
1-2-3 Kasumi, Minamiku, Hiroshima 734, Japan

Since methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) occupies a prominent position in nosocomial infections, we studied it by coagulase-typing of 214 strains of *S. aureus* isolated from clinical specimens on the ward from 1983 to 1988 and of 62 strains isolated in the operating room.

In the study on the ward strains, highly methicillin-resistant *S. aureus* strains (H-MRSA, MIC >100 $\mu\text{g/ml}$) which was not detected in 1983, showed a significant increase in isolation frequency, and accounted for c.60% of MRSA (MIC $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$) in 1987. Then, with the medical staff's awareness of the prevalence of MRSA on the ward, countermeasures, such as sterilization with chlorhexidine alcohol from 1987 on, significantly decreased the isolation frequency of MRSA and H-MRSA in 1988.

In the study on coagulase type, MRSA type IV strains were predominantly isolated until 1984, but after 1986 most MRSA belonged to type II. The characteristics of the current epidermic strain type II were the following.

1. It proved highly resistant to DMPPC and other β -lactam antibiotics.
2. The isolation frequency of highly β -lactamase-producing strains was less than that of the other coagulase types of *S. aureus*.
3. It was sensitive to MINO and OFLX.
4. GM-sensitive, AMK-resistant strains were circulating from the second half of 1986.

In the operating room, all the strains isolated were *methicillin-sensitive S. aureus* (MSSA), the current epidermic coagulase type there being type VII. We therefore presume that cross-infection with MRSA did not take place in the operating room but on the ward.