

群馬大学附属病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の分離状況

—第2報 MRSA 分離検体中の同時分離菌種に関する検討—

四方田幸恵・高橋 綾子・倉林 良幸

福村 幸仁・小林 功

群馬大学医学部臨床検査医学・中央検査部*

井上 松久

北里大学医学部微生物学

(平成3年12月18日受付・平成4年3月11日受理)

MRSA の検出された検査材料から同時に、あるいは菌交代の結果、どんな菌種が分離されているかについて検討した。その結果、MRSA が分離された呼吸器系検体の58%以上、尿の85%、ドレーンの51%、膿の41%、耳漏の58%は複数菌の分離例であった。この検査材料別の複数菌分離頻度はMSSAにおいてもほぼ同様であった。しかし同時分離菌種には違いが見られ、MRSA の同時分離菌種としては特に *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) が高率に認められた。他の同時分離菌種は、呼吸器系検体では *Xantomonas maltophilia* (*X. maltophilia*)、*Acinetobacter calcoaceticus* (*A. calcoaceticus*)、尿では *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) が高率に認められた。ドレーン、膿ではグラム陰性桿菌に加え、*E. faecalis*、*Corynebacterium* spp. 等のグラム陰性菌、*Bacteroides* 等の嫌気性菌が分離されていた。

Key words: MRSA, 同時分離菌種, 緑膿菌

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) は古くから、化膿性感染症をひきおこす代表的な菌として知られている。1980年代に入り、第3世代セフェム系抗生剤の使用量の増加に伴って methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)^{1,2)} の分離率が増加し、今日臨床の各科において深刻な問題となっている³⁾。MRSA はβ-ラクタム剤のみならず、多くの薬剤に耐性を示すため⁴⁾、いったんMRSAに感染すると、その治療はきわめて困難である。加えてMRSA 感染症例の多くが、compromised host であるため、投与する薬剤によっては、新たな菌交代の危険性も含んでいる。そこで、1990年7月から1991年6月までの1年間に、当大学附属病院においてMRSA の分離された検査材料から同時にどんな菌が分離されているかについて、MSSA の分離された検体との比較を中心に検討を行ったので報告する。

I. 対象および方法

1. 対象

1990年7月から1991年6月までの1年間に、当検査室で扱った臨床各種検査材料を検討対象とした。分離菌種については、上気道や便などに存在する常在菌

は対象から除外した。

2. 菌種の同定

Staphylococcus については、マンニット食塩培地 (BBL) への発育と試験管法によるコアグラゼテスト (栄研) を *Enterococcus* については、EF 培地 (日水) への発育の有無により同定を行った。*Corynebacterium* については、グラム染色による形態、カタラーゼテスト、運動性等により同定を行った。その他の菌種についてはアピシステム (アスカ) を用いた。また、*Staphylococcus*、*Enterococcus* についても、必要に応じてアピシステムを追加した。

3. MRSA の判定

分離された *S. aureus* のうち、用法に従って一濃度ディスク法 (昭和) を行い、当検査室の耐性限界値から、ceftizoxime の阻止円径が16 mm (25 μg/ml) 以下、または oxacillin の阻止円径が23 mm (6.25 μg/ml) 以下のものをMRSAとした。培地は感性ディスク用培地N (日水) を用いた。

II. 結果

1. 各種検査材料における *S. aureus* 分離頻度

* 前橋市昭和町3-39-15

1990年7月から1991年6月までの1年間に当検査室で分離した菌について、同一患者由来菌の重複をさけて分離菌の順位をみると、上位分離菌種は、Table 1のとおりであった。尿、血液検体を除いては、入院外来ともに *S. aureus* は主要な位置を占めている。他の上位分離菌種としては、入院患者由来検査材料における Coagulase Negative *Staphylococcus* (C.N.S), *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* などが目立っており、外来患者由来検査材料では主要菌種は入院患者由来のそれと異なっていた。

2. 検査材料別 MRSA 分離頻度

1990年7月から1991年6月までの1年間に当検査室で分離した methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) および MRSA について、同一患者、同一検査材料の重複分離菌は1株として、検査材料別分離頻度をみると、Table 2のとおりであった。外来患者から分離された MRSA 36株中22株(61.7%)は、膿と耳漏由来であり、これは第一報⁹⁾と同様の結果であった。また、入院患者から分離された MRSA は247株であり、呼吸器由来が90株(36.4

Table 1. Isolation frequency of bacterial species from clinical specimens from July 1990~June 1991 (%)

a. (Inpatient)

	Pharynx	Sputum	Aspirated sputum	Urine	Drain	Blood	Otorrhea	Pus
No. of bacterias	232	478	359	640	350	54	61	548
<i>Staphylococcus aureus</i>	16.4	11.7	14.5	3.3	8.3	5.6	23.0	15.1
Coagulase negative <i>Staphylococcus</i>	10.4	10.9	8.1	10.9	12.6	11.1	11.5	10.8
<i>Enterococcus faecalis</i>	7.8	3.6	5.8	15.2	18.9		3.3	6.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9.1	12.6	13.1	10.3	8.0	7.4	9.8	6.9
<i>Xantomonas maltophilia</i>		4.8	5.8					
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	7.4	5.4	8.1			7.4		
<i>Enterobacter cloacae</i>	5.6	6.9	4.7	3.1	6.3	5.6	1.6	2.6
<i>Escherichia coli</i>				7.5	4.0	13.0	3.3	5.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4.7	4.2	4.6	3.1	2.3	3.7	1.6	
<i>Corynebacterium</i> spp.	2.6		3.1	6.1		3.7	19.7	2.7
<i>Bacillus</i> spp.						7.4	1.6	2.4
<i>Bacteroides fragilis</i> group					4.6			5.6

b. (Outpatient)

	Pharynx	Sputum	Urine	Otorrhea	Pus
No. of bacterias	142	76	136	257	237
<i>Staphylococcus aureus</i>	21.1	6.6	2.2	20.6	26.2
Coagulase negative <i>Staphylococcus</i>			7.4	17.5	17.3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2.8	11.8			
<i>Streptococcus pyogenes</i>	7.0	1.3			
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2.8	3.9	4.4		2.5
<i>Enterococcus faecalis</i>			10.3		2.5
<i>Branhamella catarrhalis</i>		9.2			
<i>Haemophilus influenzae</i>	13.4	19.7			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		10.5	4.4	12.5	4.6
<i>Escherichia coli</i>	2.1		30.1		2.5
<i>Corynebacterium</i> spp.		2.6	7.4	19.8	3.8
<i>Peptococcus</i> spp.					3.8

Table 2. Isolation frequency of MRSA from clinical specimens from July 1990~June 1991

a. (Inpatient)					
Sample	No. of specimen	No. of MRSA (%)	No. of MSSA (%)	No. of <i>S. aureus</i> (%)	MRSA/ <i>S. aureus</i> (%)
Pharynx	123	17 (13.8)	21 (17.1)	38 (30.9)	44.7
Sputum	195	37 (19.0)	19 (9.7)	56 (28.7)	66.1
Aspirated sputum	109	36 (33.0)	16 (14.7)	52 (47.7)	69.2
Urine	277	16 (5.8)	5 (2.2)	21 (9.3)	76.2
Feces	56	10 (17.9)	6 (10.7)	16 (28.6)	62.5
Pleural effusion and ascites	50	9 (18.0)	6 (12.0)	15 (30.0)	60.0
Drain	133	22 (16.5)	7 (5.3)	29 (21.8)	75.9
IVH-catheter	45	9 (20.0)	3 (6.7)	12 (26.7)	75.0
Blood	49	2 (4.1)	1 (2.0)	3 (6.1)	66.7
Otorrhea	32	6 (18.8)	8 (25.0)	14 (43.8)	42.9
Pus	241	46 (19.1)	37 (15.4)	83 (34.4)	55.4
Others	266	37 (13.9)	24 (9.0)	61 (22.9)	60.7
Total	1,976	247 (12.5)	153 (7.7)	400 (20.2)	61.8
b. (Outpatient)					
Sample	No. of specimen	No. of MRSA (%)	No. of MSSA (%)	No. of <i>S. aureus</i> (%)	MRSA/ <i>S. aureus</i> (%)
Pharynx	103	1 (1.0)	29 (28.2)	30 (29.1)	3.3
Sputum	57	2 (3.5)	3 (5.3)	5 (8.8)	40.0
Aspirated sputum	1	0	0	0	0
Urine	87	1 (1.1)	2 (2.3)	3 (3.4)	33.3
Feces	13	1 (7.7)	3 (23.1)	4 (30.8)	25.0
Pleural effusion and ascites	5	0	2	2	0
Drain	2	1	0	1	100
IVH-catheter	0	0	0	0	0
Blood	0	0	0	0	0
Otorrhea	143	12 (8.4)	41 (28.7)	53 (37.1)	22.6
Pus	140	10 (7.1)	52 (37.1)	62 (44.3)	16.1
Others	142	8 (5.6)	8 (5.6)	16 (11.3)	50.0
Total	693	36 (5.2)	140 (20.2)	176 (25.4)	20.5

%), 尿由来 16 株 (6.5%), ドレーン由来 22 株 (8.9%), 膿由来 46 株 (18.6%) であった。また、各種検査材料における MRSA の分離頻度は、吸引痰で最も高く 33.0%, 次いで膿の 19.1% であった。逆に分離頻度が低いのは、*S. aureus* の少ない血液 (4.1%) と尿 (5.8%) であった。しかし、分離された *S. aureus* が MRSA である可能性の高いものは、尿、ドレーン、IVH カテーテルであり、耳漏におけるその可能性は有意に低かった。

3. MRSA および MSSA の同時分離菌種

MRSA が単独で分離された検体の割合をみると、血液、体腔液、便、IVH カテーテル、膿においては MRSA が単独菌として分離されることが多かった。しかし他の検査材料において MRSA が単独菌として分離される頻度は 50% 以下であり、特に尿 (5 検体 14.7%), 吸引痰 (24 検体 18.6%) でその割合は低かった。また MSSA の単独分離検体の割合もほぼ同様の結果であった (Table 3)。しかし各種検査材料における同時分離菌種をみると、MRSA と MSSA とでは異なっており、MRSA 分離検体においては *P. ac-*

Table 3. Isolation frequency of MRSA and MSSA with or without other bacteria

Sample	MRSA			MSSA		
	No. of specimen	alone (%)	with other bacteria (%)	No. of specimen	alone (%)	with other bacteria (%)
Pharynx	37	11 (29.7)	26 (70.3)	66	29 (43.9)	37 (56.1)
Sputum	71	30 (42.2)	41 (57.8)	44	23 (52.3)	21 (47.7)
Aspirated sputum	129	24 (18.6)	105 (81.4)	37	4 (10.8)	33 (89.2)
Urine	34	5 (14.7)	29 (85.3)	12	1	11 (91.7)
Feces	22	15 (68.2)	7 (31.8)	10	7	3
Pleural effusion and ascites	20	14 (70.0)	6 (30.0)	13	11 (84.6)	2 (15.4)
Drain	53	26 (49.1)	33 (50.9)	17	7 (41.1)	10 (58.9)
IVH-catheter	9	6	3	5	5	0
Blood	2	2	0	1	1	0
Otorrhea	26	11 (42.3)	15 (57.7)	70	30 (42.9)	40 (57.1)
Pus	117	69 (59.0)	48 (41.0)	130	83 (63.8)	47 (36.2)

uginosa の存在がきわだっている。特に咽頭、吸引痰では、複数菌分離検体の50%以上の検体から同時に *P. aeruginosa* が分離されていた。*P. aeruginosa* に次いで多かったのは、呼吸器系検体では *Xantomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Enterobacter* spp. であり、尿では *E. faecalis*, *Corynebacterium* spp. であった。他の検体では耳漏の *Corynebacterium* spp., 膿の *E. faecalis* などが同時分離菌種として目立っていた。MSSA 分離検体においては吸引痰が MRSA 分離検体と類似した結果であったが、他の検査材料においては同時分離菌種、分離頻度とも異なっていた。特に、*P. aeruginosa* は便、ドレーン、耳漏からは分離されなかった (Table 4)。

III. 考 察

MRSA による感染を防止する対策として、一方では院内感染の防止のための努力がなされ^{6,7)}、また一方では使用薬剤にも注意がむけられてきている⁸⁾。当大学病院における *S. aureus* に対する MRSA の分離率は、1980 年より増加の一途であったが⁵⁾、最近の2年間を比べると1989年は入院68%、外来18%、1990年は入院60%、外来10% (methicillin $\geq 6.25 \mu\text{g/ml}$) と減少傾向にあり、これらの努力が現れ始めたものと思われる。しかし MRSA が難治性であることにかわりはなく、compromised host においては、治療中に MRSA に新たな菌が加わって分離される検体を経験することも珍しくない。

今回の検討結果では、複数菌分離率について、MRSA の分離された検体と MSSA の分離された検体

との間に差は認められなかった。しかし同時に分離される菌種は、吸引痰を除いてまったく異なっており、MRSA は *P. aeruginosa* との同時分離率が高いのが特徴である。他の同時分離菌種としては、呼吸器検体の *X. maltophilia*、尿と膿の *E. faecalis*、ドレーンの *Enterococcus* spp. 耳漏の *Corynebacterium* などが多かった。これらの同時分離率の高い菌はいずれも β -lactam 剤の抗菌力のおよばない菌種であった。病院内に定着したこれら日和感染菌が、免疫力の弱い患者に感染する際、使用されている薬剤によって選択されていることは十分考えられる。

Maddocks⁹⁾ の提唱した indirect pathogenesis は感染巣内に β -lactamase 非産生の病原菌と β -lactamase 産生の非病原菌が共存した場合に、病原菌に対して投与された β -lactam 剤が非病原菌の産生する β -lactamase によって不活性化されるという概念である。中浜¹⁰⁾ は indirect pathogenesis は β -lactamase 以外の因子、たとえば *P. aeruginosa* のプロテアーゼやエラスターゼ *E. faecalis* の溶血毒、*A. calcoaceticus* の白血球毒によってもおこり得ると述べている。また、小川ら¹¹⁾ は、*E. faecalis* が他菌種との混合感染時に、感染発症を惹起しやすくする作用があると述べている。MRSA それ自身による感染症がどの程度存在するか不明であるが、たとえ起炎菌が MRSA でなくても、MRSA 分離検体の約半数は、*P. aeruginosa* を中心とした β -lactam 剤の抗菌力のおよびにくい、いくつかの菌種との同時分離検体であるため、その治療はより困難となろう。特に MRSA と *P. aeruginosa* によ

Table 4. Organisms isolated simultaneously with MRSA and MSSA

a. (MRSA)							
	Pharynx	Sputum	Aspirated sputum	Urine	Drain	Otorrhea	Pus
No. of specimen	26	41	105	29	33	16	48
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14 (53.8)	16 (39.0)	61 (58.1)	12 (41.4)	12 (36.4)	4 (26.7)	12 (25.0)
<i>Xantomonas maltophilia</i>	3 (11.5)	12 (29.3)	25 (23.8)		5 (15.2)		3 (6.3)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	5 (19.2)	6 (14.6)	8 (7.6)			1 (6.7)	2 (4.2)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (3.8)	5 (12.2)	5 (4.8)		4 (12.1)		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 (3.8)	6 (14.6)	1 (1.0)	1 (3.4)	1 (3.0)		2 (4.2)
<i>Escherichia coli</i>	4 (15.4)	1 (2.4)	5 (4.8)	1 (3.4)			1 (2.1)
<i>Proteus mirabilis</i>	5 (19.2)		2 (1.9)	3 (10.3)			1 (2.1)
<i>Enterococcus faecalis</i>	6 (23.1)	3 (7.3)	5 (4.8)	8 (27.6)	7 (21.2)	1 (6.7)	15 (31.3)
<i>Enterococcus faecium</i>		1 (2.4)			8 (24.2)		
Coagulase negative <i>Staphylococcus</i>	4 (15.4)	8 (19.5)	1 (1.0)	2 (6.9)	1 (3.0)	1 (6.7)	5 (10.4)
<i>Corynebacterium</i> spp.	2 (7.7)		9 (8.6)	5 (17.2)		6 (40.0)	8 (16.7)
<i>Bacteroides fragilis</i> group			1 (1.0)	1 (3.4)	5 (15.2)		8 (16.7)
<i>Candida albicans</i>	4 (15.4)	2 (4.9)	7 (6.7)	2 (6.9)	4 (12.1)		2 (4.2)

(%)

b. (MSSA)							
	Pharynx	Sputum	Aspirated sputum	Urine	Drain	Otorrhea	Pus
No. of specimen	37	21	33	11	10	40	47
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 (13.5)	3 (14.3)	12 (36.4)	2 (16.7)			5 (10.6)
<i>Xantomonas maltophilia</i>		1 (4.8)	6 (18.2)			2 (5.0)	1 (2.1)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	5 (13.5)	1 (4.8)	3 (9.1)			1 (2.5)	5 (10.6)
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1 (2.7)	5 (23.8)				1 (2.5)	1 (2.1)
<i>Haemophilus influenzae</i>	6 (16.2)	1 (4.8)				2 (5.0)	
<i>Enterobacter cloacae</i>		2 (9.5)	4 (12.1)		3		2 (4.3)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 (10.8)	4 (19.0)	4 (12.1)	1 (8.3)	1		1 (2.1)
<i>Enterococcus faecalis</i>	3 (8.1)		5 (15.2)	3 (25.0)	1	2 (5.0)	7 (14.9)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2 (5.4)		4 (12.1)	1 (8.3)	3	1 (2.5)	7 (14.9)
<i>Streptococcus milleri</i>					4		
Coagulase negative <i>Staphylococcus</i>	3 (8.1)	1 (4.8)	2 (6.1)	2 (16.7)		11 (27.5)	8 (8.5)
<i>Corynebacterium</i> spp.	3 (8.1)		5 (15.2)	2 (16.7)		20 (50.0)	3 (6.4)
<i>Peptococcus</i> spp.	1 (2.7)		3 (9.1)	3 (25.0)		1 (2.5)	5 (10.6)
<i>Candida albicans</i>	6 (16.2)		3 (9.1)		2	2 (5.0)	1 (2.1)

(%)

る混合感染の場合、両菌種共に β -lactamase を産生する割合が高く、しかも誘導によりその産生量は飛躍的に増加すること¹²⁾ から、治療の困難さは想像に難くない。

MRSA は臨床で今日最も汎用されている β -ラクタム系薬剤や、マクロライド系薬剤、アミノグリコシド

系薬剤、あるいは株によってはニューキノロン、minocycline にも耐性を示す。Cafmetazole, ofloxacin, minocycline, fosfomycin などが MRSA 感染症に対する治療薬として有効であるとの報告¹³⁾ や、各種抗生剤との併用による有効性の報告¹⁴⁾ も散見されるが、絶対的なものはないようである。現在最も有効

とされているのは、vancomycinで、内服および静注で使用され始めている^{15,16)}が、*P. aeruginosa*をはじめとするMRSAとの同時分離菌の存在を考えると、vancomycinがグラム陽性菌に対してのみ有効であることから、MRSAの感染の裏での、新たな菌交代の危険性が示唆される。

本論文の要旨は、第38回日本化学療法学会東日本支部総会において発表した。

文 献

- 1) Ubukata K, Yamasita N, Konno M: Occurrence of a β lactaminducible penicillin binding in methicillin resistant staphylococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 27: 851, 1985
- 2) Utsui Y, Yokota T: Role of an altered Penicillin-binding protein in methicillin and cephem resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 28: 397~403, 1985
- 3) 宍戸春美, 石引久弥, 永竹 毅, 松本慶蔵: MRSAの臨床。化学療法の領域 6: 1177~1189, 1990
- 4) 菅野治重: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 感染症の病態とその対策。臨泌 44: 659~667, 1990
- 5) 四方田幸恵, 高橋綾子, 角田佐穂里, 小林 功: 群馬大学医学部附属病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の分離状況。Chemotherapy 39: 813~821, 1991
- 6) Shanson D C, Johnstone D, Midgley J: Control of a hospital outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection: Value of an isolation unit. *J Hosp Infect* 6: 285~292, 1985
- 7) 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: 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。Chemotherapy 37: 137~141, 1989
- 8) 小西敏郎, 吉田純司, 平田 泰, 森 潔, 平石守, 出月康夫, 奥住捷子: 外科手術後のMRSA感染症—とくに胃切除後の腸炎型MRSA感染症の診断対策—。細菌医学 44: 2531~2537, 1989
- 9) Maddocks J L, May J R: "Indirect pathogenicity" of penicillase producing enterobacteria in chronic bronchial infections. *Lacet*, 1: 793~795, 1969
- 10) 中浜 力, 山田真理恵, 副島林造: 慢性気道感染症における化学療法。化学療法の領域 6: 246~255, 1990
- 11) 小川正俊, 宇治達哉, 宮崎修一, 五島聡智子: *Enterococcus faecalis* の実験的敗血症における病原因子に関する基礎的検討。感染症学雑誌 62: 217~225, 1988
- 12) 高橋綾子, 四方田幸恵, 入谷さゆり, 田波 洋, 橋本一, 井上松久: 緑膿菌に対する β -ラクタム剤感染受性ディスク法による耐性誘導とそこに現れた変異株解析。Chemotherapy 37: 1458~1466, 1989
- 13) 横田 健: MRSAの耐性機構と対策。日本臨床 46 特別号: 189~200, 1988
- 14) 井上松久, 橋本 一, 松井初江, 桜井奈津子, 大久保豊司: MRSAに対するceftizoximeとimipenemとの併用効果について。Chemotherapy 37: 869~876, 1989
- 15) 相川直樹, 田熊清継, 堀 進悟: 外科患者のMRSA感染症。臨床胸部外科 10: 305~310, 1990
- 16) 添田耕司, 小野田昌一, 神津照雄, 奥山和明, 小出義雄, 林 春幸, 吉田正美, 小高通夫, 磯野可一: 新たなrisk factorとなった食道癌術後MRSA感染症—その現状と対策—。日胸外会誌 37: 259~261, 1989

2. Isolation of MRSA at gunma university hospital: studies of polymicrobial species occurring with MRSA

Sachie Yomoda, Ayako Takahashi, Yoshiyuki Kurabayashi
Yukihito Fukumura and Isao Kobayashi

Clinical Laboratory, Gunma University Hospital, 3-39-15 Shouwamachi, Maebashishi 371, Japan

Matsuhisa Inoue

Department of Microbiology, Kitasato University School of Medicine

We analyzed bacterial strains from clinical specimens isolated with methicillin resistant (MRSA) and -sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA). The isolation rates of MRSA with polymicrobial infection, as well as the MSSA dose, were high in aspirated sputum (81%), urine (85%), drain (51%), pus (41%) and otorrhea (58%). *Pseudomonas aeruginosa* has been a major bacterial species in polymicrobial infection with MRSA. *Xantomonas maltophilia* and *Acinetobacter calcoaceticus* have also occurred frequently in aspirated sputum, *Enterococcus faecalis* in urine. On the other hand, *E. faecalis* and *Corynebacterium* spp. etc. were isolated from specimens such as drain and pus in addition to gram negative bacteria.