

[原 著]

同一患者の血液およびその他複数検体から検出された *Staphylococcus aureus* の臨床微生物学および分子生物学的同一性森木省治¹⁾・野畑亜希子¹⁾・柴田 宏¹⁾・益田順一²⁾・熊倉俊一³⁾¹⁾ 島根大学医学部附属病院検査部²⁾ 島根大学医学部臨床検査医学講座³⁾ 島根大学医学部附属病院輸血部 (ICT 代表)

(平成 16 年 4 月 12 日受付, 平成 16 年 8 月 16 日受理)

2002 年 7 月から 2002 年 12 月の間に 10 症例の血液培養から *Staphylococcus aureus* が検出された。このうちの 7 症例では血液以外の検体からも *S. aureus* が検出され、これらの *S. aureus* について、その同一性を臨床微生物学および分子生物学的に検討した。7 症例の *S. aureus* は 5 症例がコアグラゼ (コ) II 型の methicillin resistant *S. aureus* (MRSA)、残りの 2 症例はコ・VII 型とコ・III 型の methicillin susceptible *S. aureus* (MSSA) であった。コ・VII 型株が検出された *S. aureus* は、oxacillin (MIPIC) に 4 から 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の MIC で borderline-resistant *S. aureus* であった。しかし、PCR による *mecA* および penicillin binding protein2' (PBP2') は陰性であった。また、7 症例から検出された *S. aureus* 計 20 株の同一性を検討した pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 解析の結果、症例間の電気泳動像は異なっていたが、同一症例では 1 症例を除き、血液およびその他の検体から検出された *S. aureus* の電気泳動像は同一パターンを示した。これらの臨床微生物学および分子生物学的成績から血液培養から検出された *S. aureus* とその他複数検体から検出された *S. aureus* は、同一の菌株に由来することが示唆された。血液培養から *S. aureus* が検出される患者は、同一クローン株を内因的に保有し、そのクローン株による内因的感染症に進展する可能性が考えられた。

Key words: 血液培養, borderline-resistant *S. aureus*, PCR (polymerase chain reaction), PFGE (pulsed-field gel electrophoresis), 接触感染

わが国において、1980 年代初頭から検出され始めた多剤耐性の methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) は、急速に全国に広まった。現在では各種臨床材料から最も多く検出されており、病院感染対策上重要な細菌である^{1), 2)}。この MRSA は、 β -lactam 薬に対して低親和性の細胞壁合成酵素 (PBP2') を産生することにより耐性を獲得することが知られている。この酵素は β -lactam 薬の存在下においても細胞壁の合成が可能のため、MRSA は β -lactam 薬の殺菌作用をまぬがれて増殖する³⁾。

また、*Staphylococcus* 属は鼻腔内などに定着しやす

く、容易に保菌者となり、周囲の患者や医療器具を含めた病院環境への感染源となることもある。このため、病院感染対策上注意が必要である。

病院感染予防は、標準予防策を基本に病原性微生物や病態に応じた感染経路別予防策として、空気、飛沫および接触感染予防策を実践することが肝要である。MRSA は接触感染により伝播し、内因性感染のみならず医療従事者を介した外因性感染を発症するため、接触予防策の徹底が求められる。この接触感染経路としては、患者から他の患者への伝播、患者から医療従事者を介する伝播および院内の汚染環境、器具からの伝播などの可能性が考えられるが、主とした感染経路は汚染された医療従事者の手指を介した感染である。

日常検査において、同一患者の複数の検体から同一菌が検出されることがある。これらの複数の検体から検出された細菌の同一性の確認には、各種細菌同定機

著者連絡先: (〒693-8501) 出雲市塩冶町 89-1

島根大学医学部附属病院検査部

森木省治

TEL: 0853-20-2420

E-mail: smoriki@shimane-med.ac.jp

器または細菌同定キットなどのバイオパターンや薬剤感受性検査によるアンチバイオグラムなどを比較することが一般的に行われており、これらは迅速性の利点がある⁴⁾。しかし、わが国で検出される MRSA の多くは、コアグララーゼ (コ型)・II 型株であることから成績に偏りがある^{5), 6)}。これらのことから長時間を必要とするが、型別解析に優れた pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) が病院感染事例の分子生物学的解析手法として用いられつつある⁶⁾。今回われわれは、同一患者の複数の検体から検出された *S. aureus* の同一性について臨床微生物学のおよび分子生物学的手法により検討した。

材料と方法

2002年7月から2002年12月の間に BacT/ALERT 3D (日本ビオメリュー) 用血液培養瓶に採取された提出検体から、*S. aureus* の検出症例について検討を行った。この期間の血液培養検査依頼件数は 540 件で、そのうち 75 件が血液培養陽性であった。そして、10 症例から *S. aureus* が検出されたが、3 症例は血液培養からのみ *S. aureus* が検出された。血液以外の複数検体からも *S. aureus* が検出された、7 症例について検討した。*S. aureus* 検出症例については、前後 1 週間以内に提出検体の有無およびそれらの検体から *S. aureus* が検出されているか否かを検索した。*S. aureus* の同定は BacT/ALERT 3D で陽性を示した培養瓶から培養液を採取し、血液寒天培地 (栄研化学)、チョコレート寒天培地、ドリガルスキー改良培地 (日本バクテンディッキンソン) およびブルセラ HK 寒天培地 (極東製薬工業) 培地で好気、炭酸ガスおよび嫌気培養に発育を認めた分離株について、カタラーゼ試験、VITEK AMS (日本ビオメリュー) およびコアグララーゼ試験用ウサギプラズマ '栄研' (栄研化学) を用いたコアグララーゼ試験を行い *S. aureus* と同定した。

薬剤感受性検査は、NCCLS 法に準拠⁷⁾した微量液体希釈法を用い MIC-2000 (長瀬産業) で検出菌の最小発育阻止濃度 (MIC) を求め、oxacillin (MIPIC) に対する MIC から $2 \mu\text{g/ml}$ 以下を methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) とし $4 \mu\text{g/ml}$ 以上を MRSA と同定した。同時に、同一患者のその他の検体から *S. aureus* が検出されていたとき、その検出株を用いて上記と同様に薬剤感受性検査およびブドウ球菌用コアグララーゼ型用免疫血清 (デンカ生研) を用い表現型検査を行った。また、MIPIC に対して $0.5 \mu\text{g/ml}$ 以下から $8 \mu\text{g/ml}$ の MIC を示した同一患者の 4 株について MRSA-LA 「生研」(デンカ生研) を用いて PBP

2' の検出を行った。血液寒天培地上に発育した *S. aureus* を熱アルカリ抽出し、抗モノクローナル抗体感作ラテックスを用いたスライド凝集反応を行い、凝集を肉眼的に判定した。

分子生物学的相同性の検討には PCR と PFGE を行った。PCR は *S. aureus* の菌液をフェノール・クロロホルム抽出、エタノール沈殿し、鋳型 DNA とした。プライマーは Tokue らの報告した *mecA* 検出用プライマーを用いた⁸⁾。PCR はサーマルサイクラー (ロッシュ・ダイアグノスティックス) を用いた。反応時条件はアニーリング 94°C 30 秒ディネーター 55°C 30 秒エクステンション 72°C 60 秒を 35 サイクル行った。PCR 産物の検出は、1% アガロースを用い電気泳動による分離後、エチジウム・ブロマイド染色で目的とする 1,339 bp のバンドを紫外線下で検出した。

PFGE はジーンパス・キット (日本 BIO-RAD) を用い、液体培地で培養後、プラグモールドを作成し、lysozyme/lysostaphin 処理、 50°C で proteinase K 処理、プラグ洗浄、 25°C で SmaI 処理後、1% 電気泳動用 agarose に包埋後 CHEF-DRIII (日本 BIO-RAD) を用いて、電圧 6.0 v/cm 、パルス時間 5.3 から 34.9 秒、電気泳動時間 20.0 時間の条件で電気泳動した。そして、エチジウム・ブロマイド染色後紫外線下で観察した。

成 績

1) 血液培養およびその他の複数検体から *S. aureus* が検出された 7 症例の検出検体と薬剤感受性およびコアグララーゼ型別成績

7 症例から検出された 20 株の由来と薬剤感受性検査およびコ・型別成績を示した (表 1)。7 症例中コ・II 型の 5 症例 14 株は、MIPIC に対して $16 \mu\text{g/ml}$ より高い MIC を示し、ペニシリン系、セフェム系、カルバペネム系、キノロン系およびマクロライド系はすべて耐性であった。しかし、症例 3 から検出された 3 株は clindamycin (CLDM) に $0.13 \mu\text{g/ml}$ 以下の MIC であった。一方、vancomycin (VCM) にはすべて感受性であった。コ・型別はコ・II 型が 5 症例とコ・VII 型およびコ・III 型がそれぞれ 1 症例であった。また、血液培養から検出された *S. aureus* のコ・型と、血液以外の複数検体から検出された *S. aureus* のコ・型は各症例間ではすべて同一であった。7 症例のうち 4 症例は IVH カテーテル先端からも同時に *S. aureus* が検出されたが、残りの 3 症例からは IVH カテーテル先端の検体は提出されていない。また、血液だけから *S. aureus* が検出された 3 症例は 1 株が MRSA

表1 複数検体から検出された材料と薬剤感受性およびコアグララーゼ型別成績

症例	材料	MPIPC	ABPC	CEZ	CTM	CMZ	CZX	FMOX	IPM	EM	CLDM	OFLX	MINO	AMK	VCM	コ・型
1	動脈血	4	≤0.13	≤0.25	1	1	4	≤0.5	≤0.06	0.5	≤0.13	0.5	≤0.25	4	1	VII
	開放膿	8	≤0.13	≤0.25	8	4	4	≤0.5	≤0.06	0.5	0.25	0.5	≤0.25	4	1	VII
	IVH先端	≤0.5	≤0.13	≤0.25	1	4	2	≤0.5	≤0.06	0.5	≤0.13	0.5	≤0.25	4	1	VII
	肉芽組織	4	≤0.13	≤0.25	1	4	2	≤0.5	≤0.06	0.5	≤0.13	0.5	8	4	1	VII
2	動脈血	>16	>8	>32	32	32	>32	>32	>16	>8	>4	>8	4	8	1	II
	喀痰	>16	>8	>32	>32	>32	>32	>32	>16	>8	>4	>8	8	4	2	II
3	動脈血(8/9)	>16	>8	>32	>32	>32	>32	>32	>16	>8	≤0.13	>8	2	4	1	II
	動脈血(8/13)	>16	>8	>32	>32	>32	>32	>32	>16	>8	≤0.13	>8	4	4	1	II
	開放膿	>16	>8	>32	>32	>32	>32	>32	>16	>8	≤0.13	>8	2	2	1	II
4	静脈血(好気)	>16	8	>32	>32	32	>32	>32	8	>8	>4	8	8	8	1	II
	静脈血(嫌気)	>16	8	>32	>32	8	>32	>32	8	>8	>4	8	>8	8	1	II
	IVH先端	>16	>8	>32	>32	32	>32	>32	16	>8	>4	8	8	8	1	II
5	静脈血	>16	>8	>32	>32	>32	>32	>32	16	>8	>4	>8	8	4	1	II
	中間尿	>16	>8	>32	>32	>32	>32	>32	16	>8	>4	>8	8	4	1	II
6	動脈血	>16	>8	>32	>32	>32	>32	>32	16	>8	>4	>8	8	16	1	II
	静脈血	>16	>8	>32	>32	32	>32	>32	16	>8	>4	>8	8	32	2	II
	喀痰	>16	>8	>32	>32	32	>32	>32	16	>8	>4	>8	8	16	2	II
	IVH先端	>16	>8	>32	>32	>32	>32	>32	16	>8	>4	>8	8	8	1	II
7	静脈血	1	8	1	1	4	4	≤0.5	≤0.06	0.5	≤0.13	0.5	≤0.25	≤1	1	III
	IVH先端	≤0.5	4	1	1	1	2	≤0.5	≤0.06	0.5	≤0.13	0.5	≤0.25	2	1	III

(μg/ml)

(コ・II型)で残りの2株はMSSA(コ・V型1株, コ・VII型1株)であった。

2) 症例1から検出された *S. aureus* 4株の *mecA*

MPIPC に対して 0.5 μg/ml 以下と 4 μg/ml から 8 μg/ml の MIC を示した症例 1, 4 株の PCR で増幅して得られた, PCR 産物の電気泳動パターンを示した(図1)。臨床由来のMRSA(陽性コントロール)は 1,339 bp に相当する *mecA* のバンドを認めたが臨床由来のMSSA(陰性コントロール)および症例1から検出された動脈血, 開放膿, IVHカテーテル先端および肉芽組織の4株には 1,339 bp に相当するバンドを認めなかった。また, MRSA-LA「生研」を用いたラテックス凝集試験も陰性であった。IVHカテーテル先端はMPIPCに対して 0.5 μg/ml 以下のMICを示したが, 他の動脈血, 開放膿および肉芽組織から検出された3株は薬剤感受性検査成績からMPIPCに対するMICが4~8 μg/mlの間にあるborderline-resistant *S. aureus* と判定した。

3) 7症例から検出されたPFGEの解析

7症例のうち症例4を除いた *S. aureus* 17株の電気泳動パターンは, 症例ごとでは異なるものの, それぞれの症例より検出された株においては, すべて同一パ

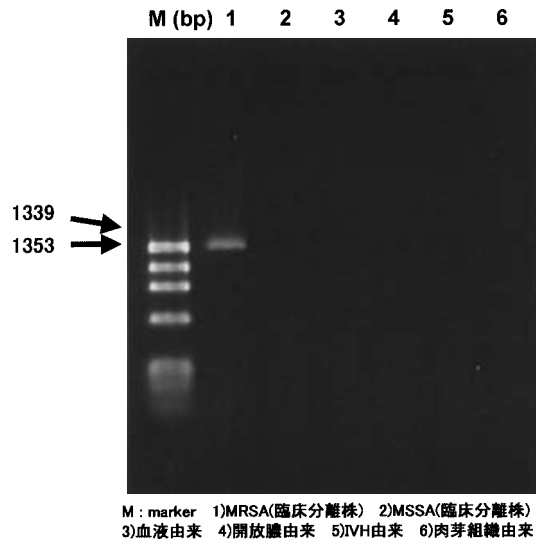
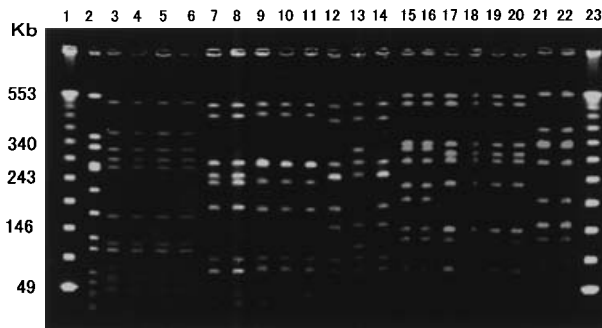


図1 症例1から検出された *S. aureus* の *mecA*

ンドの電気泳動パターンを示した(図2)。症例4は好気, 嫌気培養としてセットで提出された検体であるが, 好気培養瓶と嫌気培養瓶から検出された血液由来株の *S. aureus* は, PFGEの電気泳動パターンに3本



1) M (λ -ladder) 2) Control plug 3) 症例1 動脈血 4) 症例1 開放膿 5) 症例1 IVH
 6) 症例1 肉芽組織 7) 症例2 動脈血 8) 症例2 喀痰 9) 症例3 動脈血 (8/9)
 10) 症例3 動脈血 (8/13) 11) 症例3 開放膿 12) 症例4 静脈血 (好気培養瓶)
 13) 症例4 静脈血 (嫌気培養瓶) 14) 症例4 IVH 15) 症例5 静脈血
 16) 症例5 中間尿 17) 症例6 動脈血 18) 症例6 静脈血 19) 症例6 喀痰
 20) 症例6 IVH 21) 症例7 静脈血 22) 症例7 IVH 23) M (λ -ladder)

図2 血液培養から検出された *S. aureus* 7 症例の PFGE

のバンドの違いが認められた。しかし、好気培養と IVH カテーテル先端の培養で得られた *S. aureus* の電気泳動パターンは同一であった。

考 察

薬剤感受性検査を NCCLS の判定基準に従うと、MPIPC に $4 \mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示す *S. aureus* は MRSA と判定される。これら $4 \mu\text{g/ml}$ 以上を示す *S. aureus* の耐性機序は PBP の変異、 β -lactamase の過剰産生および β -lactam 薬の作用点の変異などが考えられている³⁾。しかし、日常検査において MPIPC に対して break point の $4 \mu\text{g/ml}$ に 1 管前後の 2 から $8 \mu\text{g/ml}$ の MIC を示し、MRSA か MSSA かの判定に苦慮する *S. aureus* にときどき遭遇する。今回、症例 1 から検出された 4 株の MPIPC に対する MIC は、IVH カテーテル先端から検出された 1 株が $0.5 \mu\text{g/ml}$ 以下で、残りの 3 株は 4 から $8 \mu\text{g/ml}$ の間の MIC であった。われわれは日常検査に用いている薬剤感受性検査 (微量液体希釈法) の MIC では MPIPC に対して $0.5 \mu\text{g/ml}$ 以下の MSSA であったが、PCR で *mecA* が検出されたコ・IV 型の heterogeneous MRSA を経験し、PCR の有用性を報告した⁹⁾。また、Nakatomi らはモノクローナル抗体を感作したラテックス凝集反応で MRSA の PBP2' を検出する検査法を開発し、MPIPC に対する薬剤感受性成績から 232 株の MRSA のうち 231 株がラテックス凝集反応が陽性で、残りの 1 株は PCR で *mecA* 陰性の検討成績を示し、MRSA スクリーニングにラテックス凝集反応の有用性を報告している¹⁰⁾。今回経験した症例 1 の 4 株のうち 3 株が

MPIPC に対して borderline resistant *S. aureus* であったことから、精査のため PCR を用いて *mecA* の検出を行った。しかし、PCR で MRSA の定義である *mecA* が検出されなかったこと、および MRSA-LA 「生研」で PBP2' を検出しなかったことから、MSSA と判定した。Louie ら¹¹⁾は MPIPC に対する MIC が 2 から $8 \mu\text{g/ml}$ で *mecA* 陰性の borderline resistant *S. aureus* 37 株の検討成績で、MRSA から borderline resistant *S. aureus* を簡単に正確に識別できるラテックス凝集法を評価している。日常検査でこのような菌株に遭遇したり、苦慮したとき、PBP2' を検出するラテックス凝集試験は、PCR と比較して特別な機器を必要とせず、しかも簡便で短時間に MRSA の検出が可能であることから有用であった。

半年の間に血液培養から *S. aureus* が 10 症例から検出された。そのうち 7 症例で血液培養以外の複数の検体からも *S. aureus* が検出された。小林¹²⁾は血液培養からは *Staphylococcus* 属が最も多く検出され、*S. epidermidis*, MRSA, *Staphylococcus* spp. および MSSA の順に多く検出したと報告している。また、MRSA が検出された症例の約 86%, MSSA の約 70% に血管内カテーテルが留置されていたことを報告している。当院においても同様で、血液培養からコアグラゼ陰性ブドウ球菌について MRSA が多く検出されている。今回、われわれが経験した症例においても、7 症例中 4 症例に IVH カテーテルが留置され、そのカテーテル先端の培養検査で 3 症例から MRSA、1 症例から MSSA が検出された。これら血液由来株とそれ以外の検体から検出された *S. aureus* のうち、

コ・II型の5症例、14株のうち症例3から検出された3株を除いた11株のMICは、ほぼ同一のMIC値を示した。各症例ともほぼ同時期に複数検体から検出されていることから、日常検査では同一株による感染を疑った。

そこで7症例20株のPFGEを行い、これらの相同性を調査した。その結果表現型の薬剤感受性およびコ・型成績は、ほぼ同一成績でこれらの成績から各症例間のMRSAの判別は困難であった。しかし、PFGEでは症例間において明らかに異なったパターンを示し、各症例間の異同を分別するための解析力は表現型成績と比較して優れていた。一方、症例4においても好気培養由来株とIVH由来株とで同一パターンを示していたこと、さらにこれらの症例から検出された*S. aureus*は表現型および遺伝子型成績も同一であったことから同一株由来の*S. aureus*と判定した。Matsudaら¹³⁾は同様に血液培養由来株とその他の検体由来株の検討を行い、血液培養から検出された*S. aureus*とその他の検体由来株とは単一菌であったことを報告している。Tenoverら¹⁴⁾はPFGEのバンドを評価基準とした試案を提示している。それによるとバンドの変化がなければ同一クローン、2から3バンドの違いまでを流行株の可能性ありとしている。その評価基準に従うと症例4の嫌気培養瓶由来の*S. aureus*は流行株の一部の可能性が考えられた。症例4以外は症例ごとの表現型と遺伝子型は同一ですべて同一クローンと考えられた。とくに喀痰、咽頭粘液、尿など血液培養以外の検体からも、*S. aureus*が検出された患者の多くは基礎疾患に加え、易感染状態にあった。われわれの成績から、血液培養から*S. aureus*が検出された個々の患者は、ほとんど同一表現型および遺伝子型の*S. aureus*を自分自身の身体に内因的に保有しているものと推測された。*S. aureus*は健康人にも常在しているが、わが国の医療施設において検出された*S. aureus*のうちMRSAが占める割合は60~70%と報告されている¹⁾。このことからMRSAは病院感染を引き起こす病原菌として最も重要な細菌である。また、外来、入院患者由来の各種臨床材料からも*S. aureus*が最も多く検出されている²⁾。さらに、血液検体からも*S. aureus*が最も多く検出されていること²⁾より*S. aureus*が血液中に侵入することはまれなことではないと考えられる。MRSAの感染経路は主として医療従事者の手指を介した接触感染であることから、感染経路を遮断するためにも保菌者あるいは感染者を問わず医療行為を行った後は、手洗いの励行を中心とした標準予防対策が重要であると考えられた。ま

た、鼻腔は病院感染のリザーバーとして重要であり、侵襲度の高い手術や検査の前には積極的なMRSAのスクリーニングを行い、除菌することが推奨されている¹⁵⁾。

結 論

2002年7月から2002年12月までの半年間に血液培養から検出された*S. aureus*とほぼ同時期に血液以外の複数の検体から検出された*S. aureus*7症例、20株の表現型と遺伝子型検査を行い、臨床微生物学および分子生物学的にその相同性を明らかにした。

1) 7症例のうち5症例がMRSAで、2症例がMSSAであった。MRSAの5症例から検出された14株は、すべてコ・II型で、MSSAの2症例はコ・VII型とコ・III型株であった。7症例の血液由来株とその他の複数の検体から検出された*S. aureus*はすべて同一コ・型であった。

2) 症例1から検出された4株のコ・VII型株のうち、IVHカテーテル先端以外の3株はMPIPCに対して4から8 μ g/mlのborderline-resistant*S. aureus*であったが、*mecA*とPBP2'が検出されなかったことからMSSAと判定した。

3) PFGEから、これらの7症例から検出された20株の*S. aureus*は、症例ごとに同一パターンを示していた。このことから、血液培養から検出された*S. aureus*とその他の複数の検体から検出された*S. aureus*は相同性があり同一株由来*S. aureus*と判定した。

これらの成績から、血液から*S. aureus*が分離される患者自身は、同一クローンの*S. aureus*を内因的に保有していることが示唆された。血液からのMRSAの検出は内因性感染の可能性が高く、病院感染防止のためMRSAの保菌検査も重要である。

文 献

- 1) 抗生物質感受性状況調査報告書。2000。平成11年厚生省委託事業：I-10-II-41。(財)医療情報システム開発センター。
- 2) 小栗豊子。2002。臨床検査の立場からみた日和見病原菌—臨床材料からの検出頻度と細菌学的特徴—。臨床と微生物 29: 253-260。
- 3) 生方公子。1991。MRSAの耐性機構。p.78-130。MRSA感染症のすべて(紺野昌俊編)。医薬ジャーナル社、大阪。
- 4) 満田年宏。2002。接触感染(1)メチシリン耐性黄色ブドウ球菌。p.100-116。感染対策のための分子疫学入門、メディカ出版、大阪。
- 5) 日暮芳巳、奥住 捷子。2000。II 日常検査におけ

- る耐性菌の検出法. 1. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). p. 40-47, 臨床検査 Yearbook 2000. 話題の耐性菌とその検査法. 臨床病理レビュー特集号 111 号. 臨床病理刊行会, 東京.
- 6) 満田年宏. 2002. 細菌の各種型別法 p. 12-29, 感染対策のための分子疫学入門, メディカ出版, 大阪.
- 7) National Committee for Clinical Laboratory Standard. 2000. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically Approved standard—5th ed. M7-A5. NCCLS, Wayne, USA.
- 8) Tokue, Y., S. Shoji, A. Watanabe, et al. 1992. Comparison of a polymerase chain reaction assay and a conventional microbiologic method for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 36: 6-9.
- 9) 森木省治, 岩田由守, 石倉浩人, 他. 1995. PCR 法および population analysis により同定し得た heterogeneous MRSA. 臨床病理 43: 487-492.
- 10) Nakatomi, Y., J. Sugiyama. 1998. A rapid latex agglutination assay for the detection of penicillin-binding 2'. Microbiol. Immunol. 42: 739-743.
- 11) Louie, L., O. S. Matsumura, E. Choi, et al. 2000. Evaluation of three rapid methods for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microb. 38: 2170-2173.
- 12) 小林芳夫. 2002. 表皮ブドウ球菌. 臨床と微生物 29: 275-277.
- 13) Matsuda, J., Y. Hirakata, F. Iori, et al. 1998. Genetic relationship between blood and non-blood isolates from bacteremic patients determined by pulsed-field gel electrophoresis. J. Clin. Microbiol. 36: 3081-3084.
- 14) Tenover, C. F., D. R. Arbert, V. R. Goering, et al. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J. Clin. Microbiol. 33: 2233-2239.
- 15) 大久保 憲. 2000. 病院感染制御基本. p. 245-253, 感染症 (一山 智, 丸山征郎編), 株式会社メディカルレビュー社, 東京.

Studies of Clinical Microbiology and Molecular Biology of *Staphylococcus aureus* Isolated from Blood Culture and Non-blood Specimens of the Same Patients

Shoji Moriki,¹⁾ Akiko Nobata,¹⁾ Hiroshi Shibata,¹⁾
Junichi Masuda²⁾ and Shunichi Kumakura³⁾

¹⁾ Shimane University Hospital Central Clinical Laboratory

²⁾ Shimane University School of Medicine Laboratory Medicine and Central Clinical Laboratory

³⁾ Shimane University Hospital Division of Blood Transfusion

From July to December 2002, we found 7 bacteremic patients who were positive for *Staphylococcus aureus* in both blood and non-blood isolates. In total, 20 isolates were studied to examine the phenotypic and genetic relationship between blood and non-blood isolates in each patient. Pattern of antibiograms and the coagulase types of *S. aureus* from blood specimens were consistent with those from the non-blood specimens in each patient. Two patients had MSSA, out of which borderline-resistant *S. aureus* was identified in 1 case, and 5 patients had MRSA. Genetic analysis by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) showed the same patterns between blood and non-blood specimens in individual cases.

However, in 1 case, different PFGE patterns were observed between 2 blood isolates that were cultured under aerobic and anaerobic conditions. Our present results indicate that *S. aureus* strains obtained from blood and non-blood isolates were phenotypically and genetically identical in each patient, suggesting the possibility that the same clone of *S. aureus* could be systemically expanded in cases of bacteremia caused by this pathogen.

Key words: blood culture, borderline-resistant *S. aureus*, PCR (polymerase chain reaction), PFGE (pulsed-field gel electrophoresis), contact transmission