

[原 著]

過去7年間に分離された入院時の鼻腔培養における methicillin resistant *Staphylococcus aureus* の疫学的調査辻原佳人¹⁾・本間正史¹⁾・吉川晃司²⁾・櫻井 馨²⁾・山田三紀子³⁾¹⁾ 神奈川県立汐見台病院 臨床検査科²⁾ 神奈川県立汐見台病院 内科³⁾ 横浜市衛生研究所

(平成19年7月4日受付, 平成19年11月28日受理)

当院は院内における感染制御を目的に, 入院時に鼻腔培養を行っている。

2000年1月から2006年12月の7年間に methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) を目的菌として鼻腔における保有状況を調査した。対象は5,534名であり, MRSA が検出された患者は259名(4.7%)であった。そのうち mupirocin (MUP) による除菌を試みた患者は259名中112名(43.2%)であった。MUP 使用後に鼻腔培養を行った患者は112名中58名(51.8%)で, MRSA が除菌された患者は58名中34名(58.6%)であった。また, MRSA 患者が退院し, 再入院時に再び MRSA が検出される患者は90名中45名(50.0%)に認められた。さらに初回入院時と再入院時に検出された MRSA の遺伝子学的な相同性について, 検討可能であった7名中4名に Similarity の高い菌株が検出された。

入院時に鼻腔培養を行うことは感染対策上, その意義は認められるが, 入院後の対処が伴わない対策では意味がない。すべての患者に除菌療法を行うことは議論のあるところだが, MUP による除菌療法の効果判定のための培養検査の実施率が低率であったことは, 入院後の対処に問題がある。MRSA のいわゆる「持ち込み」に対して, 除菌の治療方針を確立することが今後の課題と思われた。

Key words: methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, mupirocin, 鼻腔培養, 病院感染, pulsed field gel electrophoresis

序 文

Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) は1961年に英国で初めて報告されてから¹⁾, 40年以上が経過している。抗 MRSA 薬の開発や感染制御学の進歩においても, MRSA はいまなお病院感染の代表的な病原微生物である。病院感染に関する対策は, すべての医療機関において重要な課題であり, 今や病院の管理責任を問われる問題となっている。しかし, その責任が重くなる一方で, 感染対策に関する経済的な負担は病院経営を圧迫するものであり, 実情はさまざまな問題が山積している。病院は自施設の設

備, 人員, 経済性などを勘案し, 病院の特性に即した感染対策を確立しなければならない。

1996年に CDC (Centers for Disease Control and Prevention) が発表した病院感染に関するガイドライン²⁾は感染制御の gold standard である。CDC は感染経路の遮断が, 病院感染の拡大防止に最も効果的であると述べている。MRSA の主な感染経路は接触感染であり, 感染経路の遮断が最も有効な感染対策であると言える。そこで, 当院では病院感染原因菌のいわゆる「持ち込み」を重要視し, 入院時に MRSA を目的菌とした鼻腔培養を行い, 入院患者の感染管理に役立てている。入院時に患者の保有菌を把握することは, その後の隔離対策や除菌療法に効果的な対処が可能である。また, MRSA の鼻腔における保菌が他の部位の感染症の発生に関連性があったことを指摘する文献も散見されている^{3,4)}。さらに市中において, Pantone-Val-

著者連絡先: (〒235-0022) 横浜市磯子区汐見台 1-6-5
神奈川県立汐見台病院臨床検査科
辻原佳人
TEL: 045-761-3581 (内) 337
FAX: 045-759-1824

entine leukocidin (PVL) 遺伝子を保有する Community-acquired MRSA (CA-MRSA) の増加が問題となっており、高病原性の本菌が院内へ持ち込まれた場合、たいへんな脅威となる。病院の管理資質として、対外的な評価を得るためにも MRSA の感染管理を強化することを当院は選択した。

I. 材料と方法

1. 対象

2000年1月から2006年12月までの7年間に神奈川県立汐見台病院において、入院時に鼻腔培養を行った患者5,534名を対象とした。患者の内訳は内科系が2,166名、外科系が2,517名、小児が851名である。入院時に行う鼻腔培養検査の費用は当院が負担しているが、経済的な理由からすべての患者に鼻腔培養を行うことは不可能であった。対象とする患者は各診療科と話し合いを行った結果、条件を設定して培養を行った。内科系の場合は循環器科を含み、疾患を限定せずに70歳以上の患者を対象とした。外科系は整形外科、産婦人科、泌尿器科、耳鼻科、眼科などを含み、術後感染を考慮して、主に全身麻酔を施行する患者とした。小児科は特に条件を設定せずに、主治医が必要と判断した場合に鼻腔培養を行った。全科、緊急入院などの例外を除いて、原則、入院前の外来受診時に鼻腔培養を施行し、条件外であっても主治医が必要と判断した場合は培養を行った。

2. 方法

①MRSAの培養同定方法

鼻腔より、採取した検体をMRSA分離培地(栄研化学)に塗抹し、35°C、24~48時間、好気培養する。48時間以内にMRSAの発育が認められない場合は結果を陰性とする。MRSAが疑われるコロニーが発育した場合は、羊血液寒天培地M58(栄研化学)に釣菌し、35°C、24時間、好気培養する。培養で得られた菌株は、MRSAの同定試験、薬剤感受性試験をVITEK120(日本ビオメリュー)で行った。

②Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)

入院時の鼻腔培養でMRSAが分離され、入院中に除菌した後、再入院時に再びMRSAが検出された患者の初回分離菌株と再入院時分離菌株の相同性について、遺伝子学的な解析を行った。検査試薬にはGene Path Group 1 Reagent Kit (BIO-RAD)を使用した。制限酵素にSmaIを用いて、PFGEはGene Path System (BIO-RAD)で行った。泳動条件はパルスタイム10~60秒、電圧は200V・6.0V/cm、泳動時間は20時間である。泳動像はエチジウムブロマイド染色

し、紫外線照射下で撮影した。遺伝子DNA断片の多型性を解析ソフトであるDiversity Database Ver2.7 dl: (PDI)を用いて解析を行い、相同性の算出にはDiceの係数を汎用し、この時の検出感度(Sensitivity)は10.0に設定した。菌株間の類似度(Similarity)はUPGMA法にて算出した^{5,6)}。SimilarityについてはTenoverら⁷⁾に準じて判定し、MRSAのPFGEパターンを分類した^{8,9)}。泳動パターンによる相違バンド数が0~6バンドまでをSimilarityの高い株であると判断した。ただし、この判定基準の適応は1~3カ月の短期間に収集された株であること、制限酵素断片が10バンド以上得られた場合という条件が課されている。同一患者から検出された菌株であることを考慮し、初回入院から再入院までの期間が3カ月以上1年未満に分離された菌株は相違バンド数が0~3バンドまでの株をSimilarityが高いと判断した。

3. 検討内容

①入院時、鼻腔にMRSAを保有している患者の陽性率

入院時に鼻腔培養を施行し、MRSAを保有していた患者の陽性率を調査した。

②除菌療法におけるmupirocin (MUP)の使用率
当院では、鼻腔からMRSAが分離された場合、MUPの3日間塗布による除菌を推奨している。除菌療法におけるMUPの使用率を調査した。

③MUP使用後の鼻腔培養実施率

MUP使用後に除菌効果を確認するために行った鼻腔培養検査の実施率を調査した。原則、MUP使用后、翌日に培養検査を行うが7日以内に実施した場合を対象とする。

④MUPによるMRSAの除菌率

MUPを使用し、MRSAが除菌された患者の除菌率を調査した。

⑤再入院時におけるMRSAの保菌率

入院時に鼻腔培養からMRSAが分離された患者が退院後、再入院の際に再びMRSAが鼻腔より検出される患者の保菌率を調査した。

⑥初回入院時と再入院時に分離されたMRSAの遺伝子学的解析

初回入院時と再入院時に検出されたMRSAの遺伝子学的な菌株間の類似度をPFGEにて検討した。初回入院時に除菌が確認された患者のみを対象とし、検討可能であった患者は成人6名、小児1名の7症例である。

II. 結 果

1. 入院時の鼻腔における MRSA の検出状況

入院時の鼻腔培養患者は5,534名であった。鼻腔培養よりMRSAが分離された患者の内訳および検出率は内科系が2,166名中186名(8.6%)、外科系が2,517名中47名(1.9%)、小児科が851名中26名(3.1%)、合計で259名(4.7%)であった(Table 1)。

2. MUPによるMRSAの除菌療法

Table 2にMRSAの除菌療法に関する検討について示す。MRSA検出患者259名に対して112名(43.2%)にMUPを使用して、除菌療法を行った。内訳は内科系が186名中96名(51.6%)、外科系が47名中16名(34.0%)、小児科はMUPを使用しなかった。MUP塗布による除菌を行った患者112名のうち、効果判定のため58名(51.8%)が鼻腔培養を行っ

た。内訳は内科系が96名中49名(51.0%)、外科系が16名中9名(56.3%)であった。さらにMUPを使用したMRSAの除菌症例は、58名中34名(58.6%)であった。内訳は内科系が49名中29名(59.2%)、外科系が9名中5名(55.6%)であった。

3. 再入院患者の鼻腔におけるMRSAの検出状況

初回入院時にMRSAが鼻腔から検出された患者が退院後、再入院時にMRSAが再び分離される検出率は90名中45名(50.0%)であった。内訳は内科系が66名中35名(53.0%)、外科系が20名中9名(45.0%)、小児科が4名中1名(25.0%)であった(Table 3)。なお、再入院の回数が複数回に及ぶ場合は1回でもMRSAが検出されれば陽性と判断した。

Table 1. Rate of the detection of MRSA by nasal cultures on admission

Impatients	Patients	MRSA positive patients in nasal cavity cultivation	Positive rates (%)
Medicine	2,166	186	(8.6)
Surgery	2,517	47	(1.9)
Pediatrics	851	26	(3.1)
Total	5,534	259	(4.7)

Table 2. Rate of the use of MUP in eradication therapy for patients who were found to have MRSA by nasal cultures and nasal cultures performed for the assessment of the effectiveness of the eradication therapy in patients who were treated with MUP and eradication of MRSA with MUP

Impatients	Patients	Number of cases which MUP are prescribed	Number of patients which are implemented nasal cultivation	Eradicated patients by usage of MUP
		Positive rates (%)	Positive rates (%)	Positive rates (%)
Medicine	186	96 (51.6)	49 (51.0)	29 (59.2)
Surgery	47	16 (34.0)	9 (56.3)	5 (55.6)
Pediatrics	26	0	0	0
Total	259	112 (43.2)	58 (51.8)	34 (58.6)

Table 3. Rate of detection of MRSA on readmission in patients who were found to have MRSA on first admission

Impatients	Patients	MRSA positive patients at the time of re-hospitalization	Positive rates (%)
Medicine	66	35	(53.0)
Surgery	20	9	(45.0)
Pediatrics	4	1	(25.0)
Total	90	45	(50.0)

Table 4. Characteristics of patients who were found to have MRSA on first admission and re-admission

	First admission (PFGE No.)	Re-admission (PFGE No.)	Re-readmission (PFGE No.)	Subject	Age (years)	Sex
Case 1	04/13/2006 (No. 1)	07/03/2006 (No. 2)		Medicine	77	F
Case 2	02/15/2006 (No. 3)	08/19/2006 (No. 4)		Surgery	76	F
Case 3	01/19/2006 (No. 5)	10/23/2006 (No. 6)		Medicine	79	M
Case 4	02/25/2006 (No. 7)	07/25/2006 (No. 8)		Medicine	67	F
Case 5	08/22/2006 (No. 9)	09/04/2006 (No. 10)	12/01/2006 (No. 11)	Pediatrics	M1	M
Case 6	09/09/2006 (No. 12)	2006.12.1 (No. 13)		Medicine	97	F
Case 7	10/17/2006 (No. 14)	11/22/2006 (No. 15)		Medicine	82	M

Table 5. Similarity of 15 MRSA strains obtained by PFGE. Calculation method by dice coefficient

PFGE No. (%)	1	2	5	3	12	7	8	9	13	11	14	15	4	6	10
1	100	100	93.3	89.7	89.7	82.8	82.8	82.8	81.5	78.6	75.9	75.9	71.4	48.0	34.8
2	100	100	93.3	89.7	89.7	82.8	82.8	82.8	81.5	78.6	75.9	75.9	71.4	48.0	34.8
5	93.3	93.3	100	89.7	89.7	82.8	82.8	75.9	81.5	78.6	75.9	75.9	71.4	48.0	34.8
3	89.7	89.7	89.7	100	92.9	85.7	85.7	85.7	84.6	81.5	78.6	78.6	74.1	41.7	27.3
12	89.7	89.7	89.7	92.9	100	85.7	85.7	85.7	76.9	74.1	71.4	71.4	66.7	50.0	27.3
7	82.8	82.8	82.8	85.7	85.7	100	100	71.4	69.2	74.1	64.3	64.3	66.7	41.7	27.3
8	82.8	82.8	82.8	85.7	85.7	100	100	71.4	69.2	74.1	64.3	64.3	66.7	41.7	27.3
9	82.8	82.8	75.9	85.7	85.7	71.4	71.4	100	76.9	66.7	78.6	78.6	66.7	41.7	27.3
13	81.5	81.5	81.5	84.6	76.9	69.2	69.2	76.9	100	88.0	84.6	84.6	88.0	36.4	40.0
11	78.6	78.6	78.6	81.5	74.1	74.1	74.1	66.7	88.0	100	74.1	74.1	84.6	34.8	38.1
14	75.9	75.9	75.9	78.6	71.4	64.3	64.3	78.6	84.6	74.1	100	100	81.5	41.7	45.5
15	75.9	75.9	75.9	78.6	71.4	64.3	64.3	78.6	84.6	74.1	100	100	81.5	41.7	45.5
4	71.4	71.4	71.4	74.1	66.7	66.7	66.7	66.7	88.0	84.6	81.5	81.5	100	26.1	38.1
6	48.0	48.0	48.0	41.7	50.0	41.7	41.7	41.7	36.4	34.8	41.7	41.7	26.1	100	33.3
10	34.8	34.8	34.8	27.3	27.3	27.3	27.3	27.3	40.0	38.1	45.5	45.5	38.1	33.3	100

Table 6. Genetic similarity of MRSA on first admission and re-admission

	PFGE No.		Similarity	Different bands (DNA size)
	First admission	Re-admission		
Case 1	No. 1	No. 2	1	0
Case 2	No. 3	No. 4	0.74	7 (487~28 kb)
Case 3	No. 5	No. 6	0.48	11 (533~17 kb)
Case 4	No. 7	No. 8	1	0
	No. 9	No. 10	0.27	11 (533~17 kb)
Case 5	No. 9	No. 11	0.67	8 (487~22 kb)
	No. 10	No. 11	0.38	9 (533~ 8 kb)
Case 6	No. 12	No. 13	0.77	6 (487~22 kb)
Case 7	No. 14	No. 15	1	0

4. 初回入院時と再入院時に分離された MRSA の Similarity

初回入院時株と再入院時株の類似度について遺伝子学的な解析を行った。検討の対象は 2006 年に分離保存した菌株のうち、比較検討が可能であった症例は 13 名中 7 名であり、患者背景を Table 4 に示す。MRSA 15 株の Dice 法による Similarity を Table 5 に示す。Similarity は 80% 以上の一致率をもって、類似度の高い株であると判断した。初回入院時株と再入院時株の Similarity について解析した結果、100% の一致を示した症例は、症例 1, 症例 4, 症例 7 であった。同様に症例 6 は 77%, 他の 3 症例は 74% 以下であった。症例 1, 症例 4, 症例 7 は相違バンド数が 0 バンドであり、同一菌株であると判断した。症例 6 は相違バンド数が 6 バンドであり、再分離までの期間が 3 カ月以内であるので、Similarity が高い菌株であると判断した。他の 3 症例は相違バンド数が 7 バンド以上であるため、Similarity が低い菌株と判断した (Table 6)。

III. 考 察

地域開放型病院である当院は、紹介患者が多く、入院時に抗菌薬を使用している患者が多い。抗菌薬の使用日数、使用量が菌株の耐性化に関与している可能性が高いと考え、当院では入院時の「持ち込み」を重要視している。

今回の調査では 5,534 名中 259 名 (4.7%) の患者が鼻腔に MRSA を保有していた。鼻腔から MRSA が検出される場合、ほとんどが起炎菌ではなく保菌であると思われる。すべての症例に MUP を使用することは議論のあるところだが、MUP を使用した際には除菌効果の判定、病院感染の拡大防止、耐性菌を監視する意味においても培養検査を行うことが必要である。今回の調査では、MUP 使用後の培養検査の実施率は 51.8% と低率であった。入院時に鼻腔培養を行い、MUP 使用症例については除菌効果の判定を推奨すべきであり、「持ち込み」を重要視して、施行している感染対策であることから、その目的を正確に理解しないと単純な業務の惰性化につながるものが危惧された。

今回の検討で、小児は MUP の使用例がなく、ほとんどの症例が鼻腔の洗浄や「手洗い」などの接触予防策の徹底のみで、積極的には MUP を使用しなかった。小児に対する MUP の使用に関しては保険適応は認められているが、バクトロバン鼻腔軟膏 (Glaxo Smith Kline) の添付文章には「小児等に対する安全性は確立していない。」と記載されているため、一般的

には使用しづらい抗菌薬であると言える。小児は鼻腔を頻繁に手で触れる可能性が高く、除菌効果の持続に疑問が残る。MUP は鼻腔に塗布する抗菌薬であり、小児科領域では使用頻度が低いのではないかと考える。

Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA: 米国病院疫学学会) は MRSA 感染患者のみならず、保菌患者に対しても入院中の監視培養を徹底し、すべての患者に接触予防策の施行を提唱したサーベイランス (active surveillance culture: ASC) を推奨している¹⁰⁾。また、保菌者の除菌に関して、CDC は積極的ではないが、SHEA は ASC で保菌が証明された場合、除菌を考慮することを述べている。当院において SHEA の厳しいガイドラインは臨床的、経営的にも採用は困難である。現在、入院時に鼻腔から MRSA が検出された場合、外科系患者は術中、術後のリスクを考えて、MPU による除菌を行っている。しかし、他科は保菌に関して明確な除菌基準がないため、MUP の使用に関しては主治医の判断に委ねている。今後は臨床背景、入院環境などを考慮し、除菌に関する治療方針を検討する必要性がある。

今回の検討において、初回入院時に MRSA を保有し、再入院時に再び検出された患者が 50% に認められた。除菌後の培養検査の実施率が低いと、検討症例数が少なく結論については言及できないが、Table 4~6 に示したとおり、入院中に MRSA が除菌された患者が、再入院時に遺伝子学的に類似度の高い MRSA が検出されており、病院内感染である可能性は低い。患者の生活環境に MRSA が生息している可能性があり、潜在的に感染を持続し、免疫力の低下した入院時に再び、増殖するのではないかと考える。また、鼻腔は外界と接しているため、菌株が定着しやすい環境であり、MUP によって除菌されても、環境に MRSA が存在していれば、再感染する可能性がある。MUP は鼻腔に塗布する特殊な使用法の抗菌薬であり、除菌後の判定に注意が必要である。最近、MUP の長期使用や鼻腔以外の部位への使用が耐性化の原因になるとの報告が散見される^{11~13)}。MUP による除菌は使用方法の不備や耐性化の確認のためにも除菌療法後の培養検査は重要である。

当院において、長年行ってきた MRSA の感染対策が本来の目的を失った単なる作業となっていたことは大きな反省点である。感染対策とは決して高度な医療技術が求められるのではなく、本来の目的を理解し、持続し改善することに意義がある。定期的な情報の提供や教育を充実させることが目的意識を持続させるに

は最も効果的な方法であり、その中心にいるのが感染対策委員会である。当院では委員会のメンバーは全員兼任であり、日々の業務に忙殺され満足な活動が行えないことは大きなジレンマとなっている。

病院感染対策の成否はサーベイランスの充実が不可欠であり、その中心的な役割を担う検査室の責務は重い。そして、集計データを感染対策に生かせるシステムの構築は病院組織全体で問題に取り組む必要があり、職員の感染対策に対する意識の向上が最も重要であると考えられる。

謝 辞 論文の作成にあたり PFGE の測定に関して、ご指導をいただきました横浜市衛生研究所の武藤哲典氏に深謝いたします。

文 献

- 1) Barber, M. 1961. Methicillin-resistant *Staphylococci*. J. Clin. Pathol. 14: 385-393.
- 2) Garner, J. S. 1996. Guideline for Isolation Precautions in Hospitals. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Infect. Control Hosp. Epidemiol. 17: 53-80.
- 3) Jensen, A. G. 1999. Risk factors for hospital-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremia. Arch. Intern. Med. 159(13): 1437-1443.
- 4) Eiff, C. 2001. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. N. Engl. Med. 344(1): 11-16.
- 5) 満田年宏. 2002. 感染対策のための分子疫学入門—パルスフィールドゲル電気泳動法を中心に—。メディカ出版。
- 6) 根井正利 (五条堀孝, 斉藤成也共訳). 1990. 分子進化遺伝学. pp. 252-256, 培風館。
- 7) Tenover, F. C., R. D. Arbeit, R. V. 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.
- 8) Bannerman, T. L. 1995. Pulsed-field gel electrophoresis as a replacement for bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. 33: 551-555.
- 9) 一山 智. 1996. パルスフィールド・ゲル電気泳動法 原理と方法. 臨床と微生物 23: 621-625.
- 10) Muto, C. A., J. A. Jernigan, B. E. Ostrowsky, et al. 2003. SHEA guideline for prevention nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 24: 362-386.
- 11) 中川左理, 飯沼由嗣, 山本秀子, 他. 2001. Mupirocin 軟膏使用者における mupirocin 耐性ブドウ球菌の検出状況. 感染症学雑誌 75(1): 7-13.
- 12) Rahman, M., W. C. Noble, B. D. Cookson. 1987. Mupirocin resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet 2(8555): 387-388.
- 13) Cookson, B. D. 1990. Mupirocin resistance in staphylococci. J. Antimicrob. Chemother. 25(4): 497-501.

The Survey of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Nasal Cultures in the Hospital during Past 7 Years

Yoshito Tsujihara,¹⁾ Tadashi Honma,¹⁾ Kouji Yoshikawa,²⁾
Iwao Sakurai,²⁾ Mikiko Yamada³⁾

¹⁾ Department of Clinical Laboratory, Kanagawa Prefectural Shiomidai Hospital

²⁾ Department of Internal Medicine, Kanagawa Prefectural Shiomidai Hospital

³⁾ Department of Clinical Laboratory, Yokohama City Institute of Health

In our hospital we perform nasal cultures on admission of patients to control infection in the hospital. We investigated the status of the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the nasal cavity during the 7 years from January 2000 to December 2006. A total of 5,534 patients were examined during this period. Of these patients, 259 had a positive culture for MRSA (prevalence, 4.7%). Eradication with mupirocin (MUP) was attempted in 112 of the 259 patients. MUP was used in 43.2% of the patients. To assess the effectiveness of this eradication therapy, we performed nasal cultures in 58 of the 112 patients (51.8%) after completion of treatment with MUP. Eradication was achieved in 34 of the

58 patients (58.6%). Furthermore, the strain which has high similarity was detected from 4 persons among 7 persons who were able to examine the genomic homogeneity of MRSA detected at the time of primary hospitalization and re-hospitalization. It is controversial whether eradication therapy should be performed in all patients, but the finding that laboratory cultures were performed only in 51.8% of the patients for the assessment of the effectiveness of this eradication therapy with MUP indicates that there was a problem in the treatment measures after admission. The present study suggests that a strategy for eradication therapy against so-called carried-in MRSA should be established in the future.