

MRSA 院内感染の細菌学的・分子疫学的調査と 感染予防対策

岡山大学医学部細菌学講座 (指導: 小熊恵二教授)

千 田 好 子

(平成10年12月10日受理)

Key words: MRSA, 院内感染対策, PFGE 法

緒 言

わが国では1980年代前半より, 院内感染の原因菌として Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) が臨床に注目されるようになった。さらに MRSA は, 近年 Methicillin 以外の各種抗菌剤に対しても高度耐性化していることから, 大きな社会問題となってる¹⁻³⁾。

MRSA をはじめとする院内感染に対処するため, 1985年に厚生省院内感染対策研究班が組織され, 感染対策マニュアルが作成された⁴⁾。また1996年には診療報酬改定で「院内感染防止対策加算」が新たに点数化され, 各病室の入口に消毒液を設置するなど種々の基準が示された⁵⁾。MRSA の交差感染を予防するためには, 医療従事者の手洗いはもちろん環境整備, 保菌者のスクリーニング, さらに発生原因の特定, 感染源の除去など実効ある対策が重要となる。しかし現実の対応は決して十分とはいえず, MRSA の院内感染率は現在もなお低下傾向は認められず^{3,6)}, 感染防止対策の確立が急務となっている。

特に Intensive care unit (ICU) に入室している患者の多くは, 呼吸・循環・代謝・その他の急性機能不全を来とし, 全身的, 集中的・侵襲的治療を受けており, 感染防御能は低下し感染を起こしやすい病態にある。さらに ICU・救急病室には, 感染症不明の救急患者が突然入室して来たり, 多数の医療従事者が関与・移動するため院内感染がおこりやすい状況にある。またすでに感染症に罹患している患者も少なくないことから, ICU・救急病室における交差感染防止

をはじめとする院内感染対策が重要となる⁷⁻⁸⁾。さらに外科的侵襲をうけた手術後の患者も易感染性が高く, 術後感染の予防には細心の注意が必要となる^{1,9)}。

今回著者は, 医療従事者が従来実施してきた感染対策を見直し, その改善と徹底化による院内感染率の減少を目的とし, 市中病院の ICU における MRSA の生息状況および看護婦の保菌状況についての調査を行い, MRSA 拡散の実態を把握した。特定の MRSA 株の拡散状況を把握するためには, 正確な同定と詳細な型別検査を行う必要があるため, 生物学的性状や薬剤感受性パターンによる型別法に加えて, Pulse field gel electrophoresis (PFGE) 法¹⁰⁻¹²⁾による DNA バンドパターン解析を行い, 菌株間の相同性を分子疫学的に検討した。その調査結果を医療現場にフィードバックし, 患者ケアの質保証¹³⁾の視点から効果的感染対策を検討・実施した。さらにその後, ICU を含む救急病棟および外科病棟において初回と同様の調査を行い, 各病棟で実行された感染対策の効果を検証した。

材 料 と 方 法

本研究にあたり, O 病院 (定床251床) の医療関係者および当該患者・家族の了解を得たうえで, 11ヶ月の期間中3回の調査を実施した。

1. ICU における調査 [第1回目]

定床6床の ICU には, 以下の3名の患者 (A, B, C) が入室していた。

患者A: 76歳, 女性, MRSA 感染症 (腹部創, 褥創, 便, 喀痰, 尿, から MRSA が検出され

ることあり), 子宮がんの腹膜転移, 便汁性腹膜炎, 小腸ストーマ, 尿管皮膚瘻, 気管内チューブ挿入 (人工呼吸器), IVH (中心静脈栄養) カテーテル挿入, 仙骨部褥創, 脳梗塞。

患者B: 58歳, 男性, 熱傷(気道および背部), 歩行可, 個室へ入室。

患者C: 61歳, 男性, 下血, 坐位可, 個室へ入室。

図1にICUの見取り図, 患者, 分離されたMRSAの関係性を示した。患者Bと患者Cは個室に入室していたが, 患者Bの部屋のドアは常時開放され, 隣の患者Aとは一応カーテンで仕切られていたものの隔離されていないと考えら

れた。また医療従事者が患者Aのケアや処置を行う際, 手袋装着やガウンテクニックなどスタンダードプリコーション¹⁴⁾は実施されてなく, 処置後の手指は石鹸と水道水によるいわゆる社会的な手洗い (Social hand washing)¹⁵⁾を行い, ペーパータオルで拭いていた。

1) 環境由来の検体採取

(1) スタンプ法

床面などの付着菌は, RODAC® (Replicated Organism Detection and Counting) シャーレ (Becton Dickinson, USA) にマンニト食塩寒天 (日水) 17.0ml を加えたもの (スタンプ培地) を用いて採取した。ICU 内の床面22ヶ所の

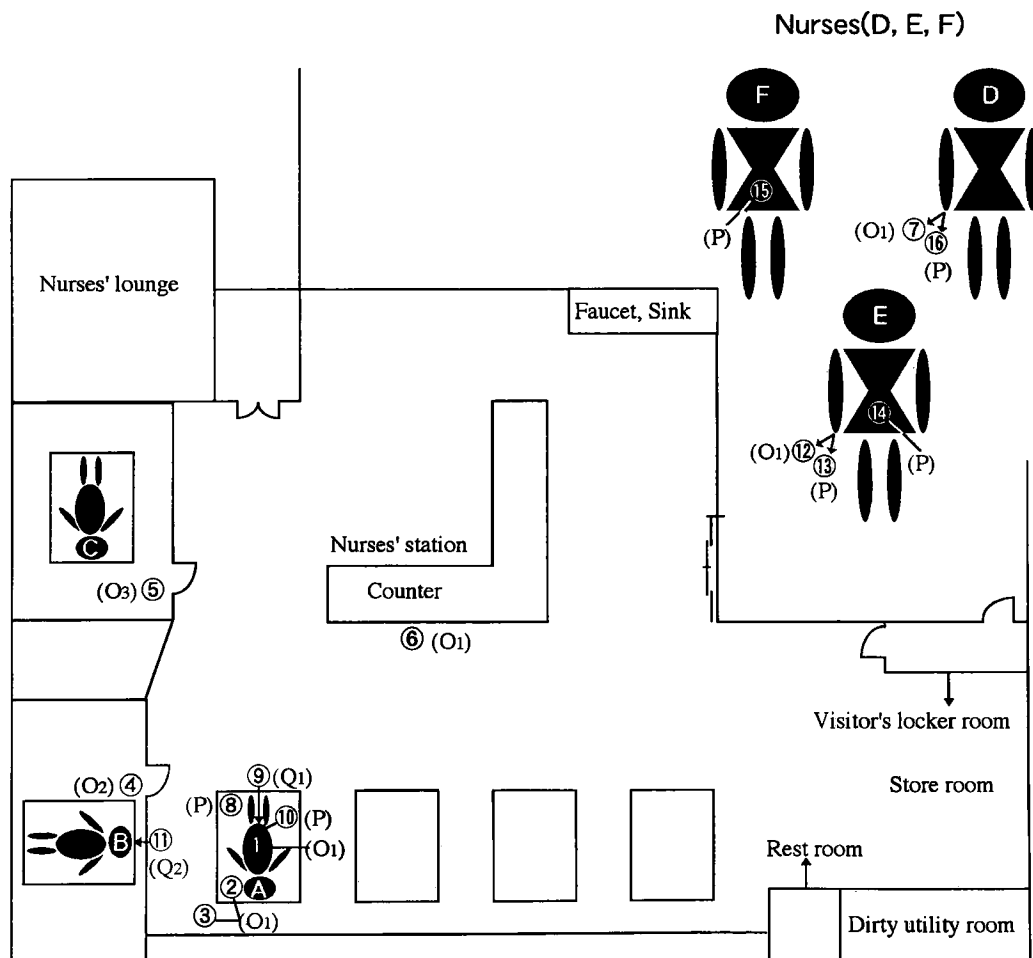


Fig. 1 Sketch map of ICU and MRSA Sources (①~⑯) and grouping based on the PFGE profiles (O₁, O₂, O₃, P, Q₁, Q₂).

清掃前後（約30分）を44検体、患者AおよびBのシーツと病衣から各4検体（計8検体）、患者Aのオーバーテーブルから3検体、患者AおよびBのカーテンから各2検体（計4検体）の合計59検体を採取した。

(2) エアサンプラー法

Biotest・RCS エアサンプラー®（グンゼ）を用いて、ICU 内5ヶ所の空中浮遊菌を清掃前後に、床から60cmの高さで専用のブドウ球菌用培地に1分間（40ℓ）吹き付け採取した（計10検体）。さらに患者Aのベッドシーツを4ヶ所、患者Bのベッドシーツ1ヶ所、患者Aの隣の空きベッドのシーツ1ヶ所を、各100cm²についてエアサンプラーを約15秒間転がし、シーツ上の菌を採取した（計6検体）。

なお当該ICUの床清掃は、委託業者が消毒液（4級アンモニウム塩、非イオン界面活性剤）を用いて1日1回実施していた。

2) MRSA 患者由来の検体採取

患者Aの腹部創分泌物、褥創分泌物、便、喀痰、尿、の一部をマニット食塩寒天培地（日水）に塗布した（計5検体）。

3) 看護職員由来の検体採取

滅菌生理食塩水で浸潤させた綿棒を用いて、看護婦4名（D、E、F、G）の両側鼻前庭から採取した細菌を、マニット食塩寒天培地（日水）に塗布した（計8検体）。次に看護婦Gを除く3名の手指細菌は、患者Aの腹部創や褥創のガーゼ交換前、直後および手洗い（流水と石鹸）後の各時点で、右手の第1～5指の指紋部をマニット食塩寒天培地（日水）上に軽く圧迫して採取した（計9検体）。さらに同看護婦の看護衣の細菌を腹部2ヶ所ずつからガーゼ交換前、直後に RODAC®スタンプ培地で採取した（計12検体）。なお看護婦Gは患者Aのガーゼ交換には関与しなかったため、手指および看護衣から各1回菌採取を行った（計3検体）。また看護婦用スリッパについては更新前、後にスリッパ裏の付着菌を RODAC®スタンプ培地で採取した（計8検体）。

4) 採取菌の同定

検体採取後のマニット食塩寒天培地を37℃ 48時間培養し、黄変発育した各種コロニーをハ

ートインフュージョン寒天培地に釣菌培養した。純培養されたコロニーについてグラム染色、カタラーゼテスト、コアグラゼテスト（兎プラズマによる簡易試験管法）を実施し、その後同定簡易キット（API システム®, BIO MÉRIEUX, France）を使用した。

5) MRSA の判定

Staphylococcus aureus と同定されたものに対して薬剤感受性試験を行い、methicillin (DMPPC) と oxacillin (MPIPC) に耐性の株を MRSA と判定した。今回は Sensi-Disc® (Becton Dickinson, USA) を使用し、阻止円直径が methicillin 9 mm 以下、oxacillin 10 mm 以下を MRSA とした。

6) MRSA の型別

(1) コアグラゼ型別試験

コアグラゼ型は、ブドウ球菌コアグラゼ型別用免疫血清®（デンカ生研）を使用し試験管法により決定した。菌培養液（18時間培養菌液）を9本の小試験管に0.1ml ずつ分注し、I～VIII型抗コアグラゼ血清および20倍希釈正常ウサギ血清（コントロール）0.1ml を各試験管それぞれに加え、よく混和し37℃ 1時間培養した。次に希釈正常ウサギ血漿0.2ml を9本の試験管に加えよく混和し、37℃ 1時間～48時間培養した。特定の抗コアグラゼ血清を加えた1本の試験管のみ凝固せず、他はすべて血漿凝固またはフィブリン析出が認められた時、凝固の阻止された型をその菌株のコアグラゼ型と判定した。

(2) MRSA の薬剤感受性パターン試験

MRSA と判定された菌株の薬剤感受性パターンをみるため、ペニシリン系、セフェム系、モノバクタム系、カルバペネム系、アミノグリコシド系、テトラサイクリン系、ポリペプチド系、その他から合計20種類の抗菌剤に対し Sensi-Disc® (Becton Dickinson, USA) を使用し、ディスク拡散法（Kirby-Bauer 法）による薬剤感受性試験を行った。感受性成績は感受性測定判定表の基準に従い、S (susceptible), I (intermediate), R (resistant) の3段階に区分した。

7) PFGE 法による型別試験

MRSA と判定された菌株間の相同性を検討するため、PFGE 法による DNA フィンガープリントを作成した。この際 Gene Path Group 1 Reagent Kit® (BIO-RAD, USA) を使用した。菌 (MRSA) を一晩振盪培養した後、Cell-suspension buffer で洗浄し、Lysozyme/Lysostaphin で溶菌後 2% Agarose に包埋し、ゲルブロックを作製した。次に Proteinase K 処理後、制限酵素 *Sma* I で染色体 DNA を切断した。切断された DNA を電気泳動用 Agarose gel に埋込み電気泳動後、Etidium Bromide で染色し蒸留水で脱色した後写真撮影した。なお電気泳動は CHEF (counterclamped homogeneous electric field gel electrophoresis) 法 (CHEF-DR II® BIO-RAD, USA) を採用し、泳動条件はパルスタイム 5~45秒、電圧 200V (6 V/cm)、泳動時間 22時間とした。また分子量マーカーは λ DNA ladder を使用した。

2. 救急病棟 (含 ICU) における調査 [第 2 回目]

第 1 回目の調査から 8 ヶ月後、ICU を含む救急病棟における調査を実施した。

図 2 に救急病棟の見取り図、患者、分離された MRSA の関係性を示した。ICU には 1 名の患者 (H, 80歳, 男性, 肺炎, 脳梗塞) のみが入室しており、患者 H の喀痰から MRSA が検出されていた。また救急病棟 (定床 15 床) には入院患者 10 名のうち、以下の 2 名の MRSA 保菌者が個室に入院中であった。

患者 I : 84歳, 男性, 脳梗塞, 虚血性腸炎, 仙骨部褥創から MRSA 検出。

患者 J : 59歳, 男性, 左外腸骨動脈閉塞症 (左下腿切断), 左鼠径部褥創から MRSA 検出。

なお看護婦は、患者 H の喀痰吸引時や患者 I と J の褥創ガーゼの交換時には、手袋とマスクおよび予防衣を装着していた。

採取した検体は以下のとおりであるが、その採取方法および MRSA の判定や DNA 型別試験などは、第 1 回目の方法に準じて実施した。

1) 環境由来の検体 : 28 検体 (床面 18, シーツ付着菌 4, 空中浮遊菌 6)。

2) MRSA 患者由来の検体 : 喀痰 (患者 H) お

よび褥創分泌物 (患者 I, J) より各 1 検体採取 (計 3 検体)。

3) 看護職員由来の検体 : 看護婦の手指消毒効果をみるため、検体採取時は看護婦 F, K, L は手袋を装着せず、それぞれ患者 H の喀痰吸引や患者 I, J のガーゼ交換などのケアを実施し、ケア前、ケア直後、社会的手洗¹⁵⁾後、ウェルパス®使用後の手指細菌を検索した (計 12 検体)。

3. 外科病棟における調査 [第 3 回目]

第 2 回目の調査から 3 ヶ月後、外科病棟 (定床 35 床) における調査を実施した。

図 3 に外科病棟の見取り図を示した。調査時 18 名の患者が入院中で、そのうち 2 名が MRSA 保菌者 (M, N) で個室に隔離されていた。患者 M (84歳, 男性, 脳梗塞, 胃がん) の仙骨部褥創および気管切開部から吸引した喀痰と、患者 N (87歳, 女性, 両大腿骨頸部骨折) の喀痰と尿から、それぞれ MRSA が検出されていた。また当該看護婦は第 2 回目と同様、スタンダードプリコーション¹⁴⁾を実施していた。

採取した検体は以下のとおりであるが、その方法や MRSA の判定などは第 1 回目の方法に準じて実施した。

1) 環境由来の検体 : 80 検体 (床面 42, ドアノブ 38)。ドアノブは拭き取り法を用いた。すなわち滅菌生理食塩水で浸潤させた綿棒を用いて、各部屋のノブの内側と外側から採取した細菌を、それぞれマニット食塩寒天培地 (日水) に塗布した。

2) MRSA 患者由来の検体 : 喀痰 (患者 M, N)、患者 M の褥創分泌物、患者 N の尿より各 1 検体採取 (計 4 検体)。

3) 看護職員由来の検体 : 45 検体 (手指 16, 看護衣 8, 右鼻前庭 21)。なお手指については第 2 回目と同様に手指消毒効果をみるため、看護婦 4 名は MRSA 保菌者の喀痰吸引やガーゼ交換などのケアを行う際に手袋は装着せず、ケア前、ケア直後、社会的手洗¹⁵⁾後およびウェルパス®使用後にそれぞれ手指細菌を検索した。また同看護婦がケア後の手指消毒を済ませ予防衣を脱いだ後、看護衣の各 2 ヶ所から細菌を採取した。

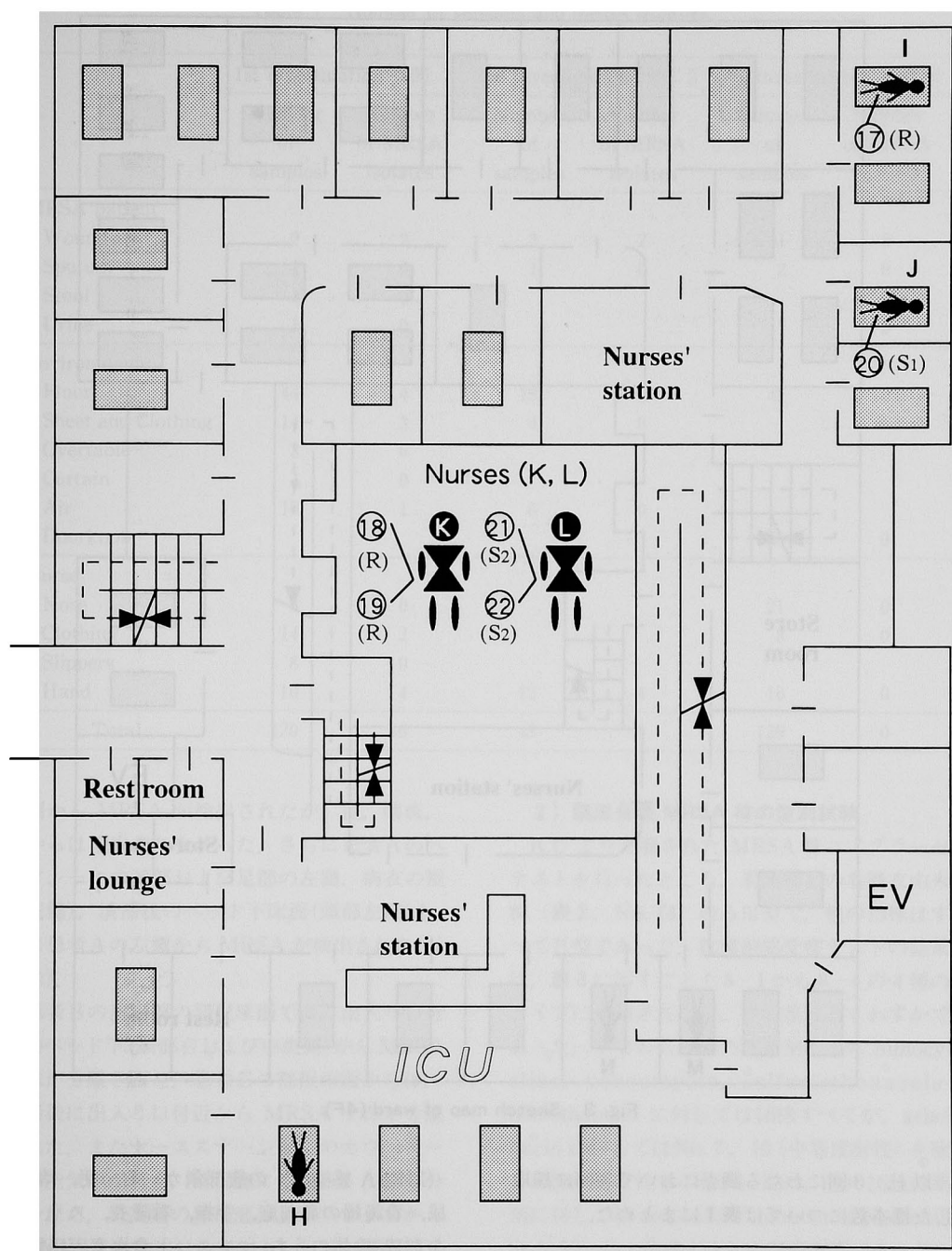


Fig. 2 Sketch map of ward (3F) and MRSA Sources (17~22) and grouping based on the PFGE profiles (R, S₁, S₂).

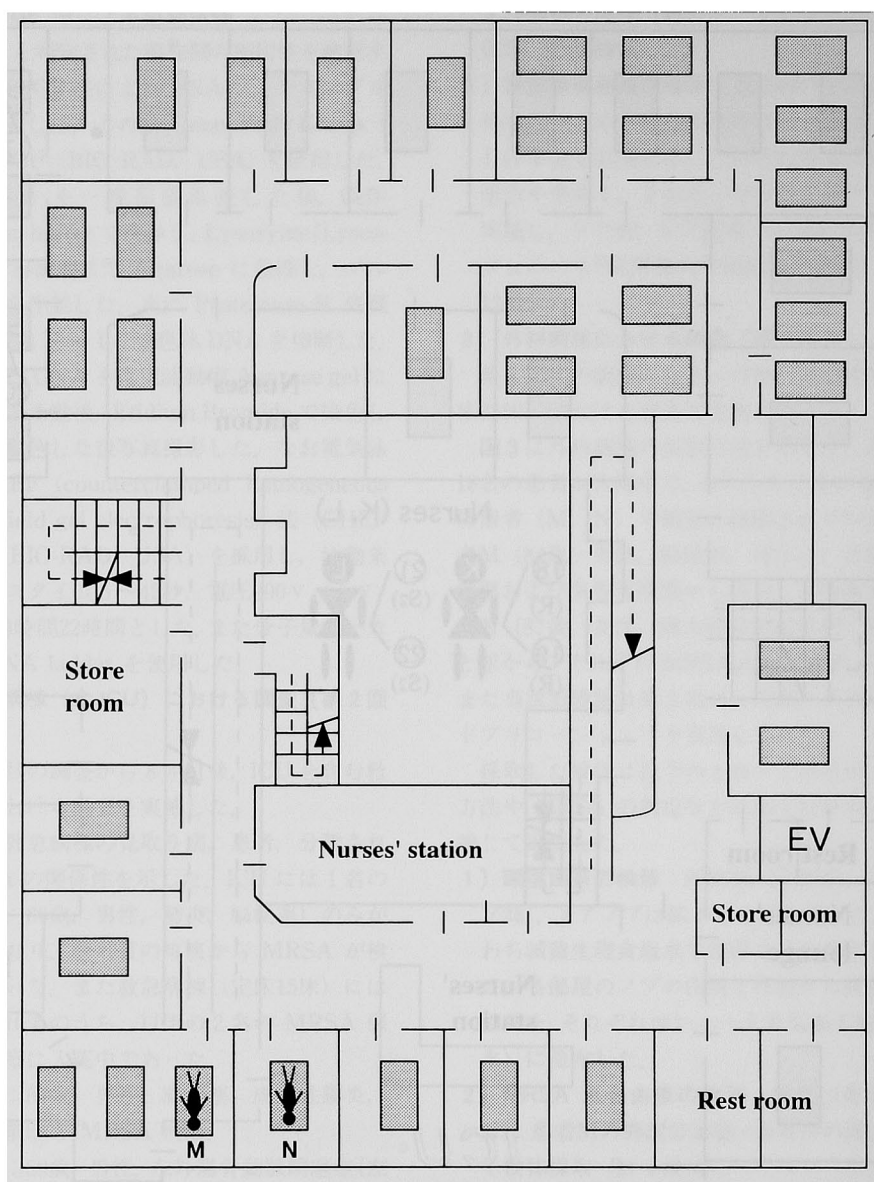


Fig. 3 Sketch map of ward (4F).

以上、3回にわたる調査において各回に採取した標本数については表1にまとめた。

結 果

1. ICUにおける調査結果〔第1回目〕

1) ICUから分離されたMRSA株と試料

ICUの環境(床面、シーツ、病衣、カーテン、オーバーテーブル、空気中浮遊菌)、患者A

(MRSA感染症)の腹部創ガーゼ、便、喀痰、尿、看護婦の鼻前庭、手指、看護衣、スリッパなど120検体のうち、マンニット食塩寒天培地に黄色の集落を形成したものは50検体(41.7%)であった。さらにこの中から、表2に示すごとく16株のMRSAが分離された。この16株については図1にも示した。

MRSA感染症の患者Aからは、腹部創および

Table 1 Number of samples and MRSA isolates

	1st investigation 1996. 7		2nd investigation 1997. 3		3rd investigation 1997. 6	
	Number of samples	Number of MRSA isolates	Number of samples	Number of MRSA isolates	Number of samples	Number of MRSA isolates
MRSA patient						
Wound	2	2	2	2	1	0
Sputum	1	0	1	0	2	0
Stool	1	0				
Urine	1	0			1	0
Environment						
Floor	44	4	18	0	42	0
Sheet and Clothing	14	3	4	0		
Overtable	3	0				
Curtain	4	0				
Air	10	1	6	0		
Doorknob					38	0
Nurse						
Nose	8	0			21	0
Clothing	14	2			8	0
Slippers	8	0				
Hand	10	4	12	4	16	0
Total	120	16	43	6	129	0

褥創から MRSA が検出されたが、便、喀痰、尿からは検出されなかった。さらに患者Aのベッドシーツの頭部および足部の左側、病衣の裾（左側）、清掃後のベッド下床面（頭部左側）と、主に患者Aの左側から MRSA が検出された（計6株）。

患者Bの清掃前の部屋床面では、出入り口付近のベッド下（頭部右および中央側）から MRSA 2株が分離された。患者Cの部屋床面からは、清掃後に出入り口付近から MRSA 1株が分離された。またナースステーションのカウンター前の空気中からも、清掃後に MRSA 1株が分離された。看護婦の鼻前庭およびスリッパからは、MRSA の検出はなかった。しかし看護婦Eでは処置前に、また看護婦Fで患者Aの処置直後の看護衣（腹部）から MRSA が各1株分離された。さらに看護婦DとEでは、患者Aのガーゼ交換後および手洗い後（水道水と石鹸）の手指からも MRSA 株が分離された。

2) 臨床分離 MRSA 株の型別試験

ICU より分離された MRSA 株コアグラエーテストを行ったところ、看護婦Eの看護衣由来株（表2, No. 14）のみⅢ型で、他の15株はすべてⅡ型であった。抗菌剤感受性テストの結果は、表3に示すごとく a-1 から a-4 の4種のタイプに分類されたが、その差はごくわずかであった。すなわち20種の抗菌剤のうち minocycline, vancomycin, sulfamethoxazole-trimethoprim に対しては16株すべてが、arbekacin に対してはNo. 7, 10（中等度耐性）を除く14株が感受性を示した。逆に、他の16種の薬剤に対しては ampicillin/sulbactam, piperacillin に対し各1菌株のみが中等度耐性であったのを除き、すべての菌株が耐性であった。

3) PFGE 法による型別試験

制限酵素 *Sma* I 切断後の PFGE の結果を図4-aに、その図解および分類を図4-bに示した。切断パターンより16株の MRSA 中、レー

Table 2 Sources of MRSA strains

No. of MRSA strains*	Source of Sampling	Time of Sampling
1	Dressing for abdominal wound of patient A	After dressing change
2	Bottom sheet of patient A (head of the bed)	After dressing change
3	Floor under the bed of patient A	After room cleaning
4	Floor under the bed of patient B (right side)	Before room cleaning
5	Floor near the door of patient C's bedroom	After room cleaning
6	Air in the ICU near nurses' station	After room cleaning
7	Hand of nurse D	After dressing change
8	Bottom sheet of patient A (foot of the bed)	After dressing change
9	Dressing for decubitus of the sacral region of patient A	After dressing change
10	Clothing of patient A	After dressing change
11	Floor under the bed of patient B (center)	Before room cleaning
12	Hand of nurse E	After dressing change
13	Hand of nurse E	After social hand washing
14	Clothing of nurse E	Before dressing change
15	Clothing of nurse F	After dressing change
16	Hand of nurse D	After social hand washing
17	Dressing for decubitus of the sacral region of patient I	After dressing change
18	Hand of nurse K	After dressing change
19	Hand of nurse K	After social hand washing
20	Dressing for decubitus of inguinal region of patient J	After dressing change
21	Hand of nurse L	After dressing change
22	Hand of nurse L	After social hand washing

* Strains 1 to 16 were isolated on the first investigation, and strains 17 to 22 were isolated on the second investigation. No MRSA was detected on the third investigation.

ン1, 2, 3, 6, 7, 12は同種, レーン4と5はその近縁種であると考えられ, それぞれグループO₁, O₂, O₃と命名した. またレーン8, 10, 13, 14, 15, 16は同種と認めグループPと命名した. さらにレーン9と11は近縁種であると考えられ, グループQ₁, Q₂と命名した(図4-b). すなわち患者Aの腹部創ガーゼ由来の菌株のDNA(レーン1)は, 同患者のベッドシーツとベッド下床面(レーン2と3), カウンター前の空气中(レーン6)および同患者の処置をした看護婦(D, E)の手指(レーン7と12)から分離された菌株のDNAと一致した. またこれらの菌株のDNAと, 患者B, Cの各部屋の床面から分離された菌株のDNA(レーン4と5)とは近縁種であった(Oパターン). さらに患者Aの褥創(レーン9)と, 患者Bの部屋(レ

ーン11)から分離された菌株のDNAは近縁種であった(Qパターン), しかしPパターンを示した6菌株, すなわち患者Aのシーツと病衣(レーン8と10), 看護婦DとEの手洗い後の手指(レーン16と13), 看護婦EとFの看護衣(レーン14と15)の由来は不明であった.

ICUから分離されたMRSAのコアグラマーゼ型, 薬剤耐性型, DNA型分類をまとめたものが表4である.

4) 感染予防対策

以上の調査結果を当該病院内感染防止対策委員会へ報告し, 従来のMRSA対策における問題点を討議し, 以下の改善策および活動内容をまとめ実行した.

- ① 各病棟への「スタンダードプリコーション」冊子の配布.

Table 3 Classification of MRSA strains on the basis of antibiotic patterns

Strain No. #	APPC/ SBT	Antibiogram													Antibiotic pattern					
		MPIPC	SBPC	CBPC	PIPC	DMPPC	CEZ	CEX	CAZ	CZX	CMZ	AZT	IPM	ABK	GM	TOB	MINO	PL-B	VCM	ST
1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-2
4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
6	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
7	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	R	S	a-3
8	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-4
9	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
10	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	R	S	a-3
11	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
12	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
13	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
14	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
15	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
16	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	a-1
17	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	a-5
18	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	a-5
19	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	a-5
20	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	I	R	S	a-6
21	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	S	S	R	R	S	S	a-7
22	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	S	S	R	I	R	S	a-8

Abbreviations: ABPC/ SBT, ampicillin/sulbactam; MPIC, oxacillin; SBPC, sulbenicillin; CBPC, carbenicillin; PIPC, piperacillin; DMPPC, methicillin; CEZ, cefazolin; CEX, cephalaxin; CAZ, ceftazidime; CZX, ceftizoxime; CMZ, ceftiozime; AZT, aztreonam; IPM, imipenem; ABK, arbekacin; GM, gentamicin; TOB, tobramycin; MINO, minocycline; PL-B, polymyxinB; VCM, vancomycin; ST, sulfamethoxazole-trimethoprim; R, resistant; S, susceptible; I, intermediate.

*Strains 1 to 16 were isolated on the first investigation, and strains 17 to 22 were isolated on the second investigation. No MRSA was detected on the third investigation.

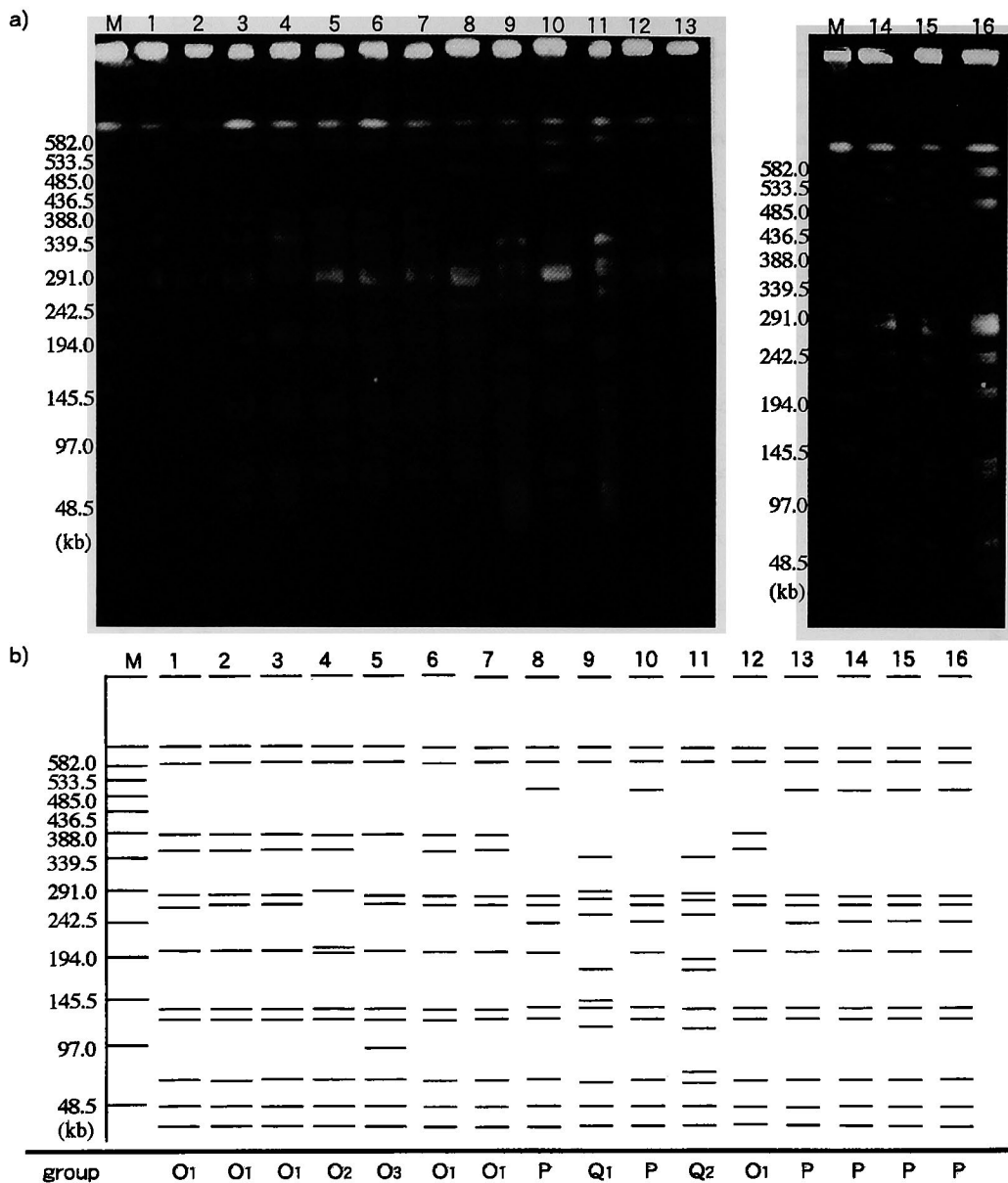


Fig. 4 a). DNA fingerprint analysis of MRSA isolates by PFGE. Chromosomal DNAs were digested with *Sma* I restriction enzyme. Lane M contains the size standards Lambda ladder.

b). Schematic representation of the 16 *Sma* I PFGE fingerprints and their grouping.

② 「スタンダードプリコーション」の励行.

a) 正しい手洗い方法の習慣化 (ポスターの掲示).

b) 各手洗い場所への液体石けん (シャボ

ネット®)およびペーパータオルの設置(全館).

c) 処置前後のウェルバース®による手指消毒の励行.

Table 4 Classification of MRSA strains on the basis of coagulase, antibiotic and DNA patterns

No. of MRSA strains*	Coagulase pattern	Antibiotic pattern	DNA pattern
1	II	a-1	O ₁
2	II	a-1	O ₁
3	II	a-2	O ₁
4	II	a-1	O ₂
5	II	a-1	O ₃
6	II	a-1	O ₁
7	II	a-3	O ₁
8	II	a-4	P
9	II	a-1	Q ₁
10	II	a-3	P
11	II	a-1	Q ₂
12	II	a-1	O ₁
13	II	a-1	P
14	III	a-1	P
15	II	a-1	P
16	II	a-1	P
17	II	a-5	R
18	II	a-5	R
19	II	a-5	R
20	II	a-6	S ₁
21	II	a-7	S ₂
22	II	a-8	S ₂

*Strains 1 to 16 were isolated on the first investigation, and strains 17 to 22 were isolated on the second investigation. No MRSA was detected on the third investigation.

- d) 患者の体液・体物質に触れる際には手袋を装着する（手袋を外した後は手洗いする）。
 - e) 飛沫が飛び散る可能性があればマスクを着用する。
 - f) 衣服の汚染が予測される場合は予防衣を着用する。
 - g) 汚染されたりネンは他の患者や環境を汚染しないよう処理する。
 - h) 環境を汚染させるおそれのある患者は個室に隔離する。
 - i) 環境対策として床面、ドアノブ、ベッド柵、ベッドサイド物品などは、消毒剤を含む洗浄剤で清掃する（清掃業者の教育）。
- ③ 院内広報：サーベイランス結果の報告（回覧）。

- ④ マニュアルの改正。
- ⑤ 教育の充実（感染対策看護婦による全看護職員への指導，院内研修会）。
- ⑥ 院内環境の細菌汚染調査。

2. 救急病棟（含 ICU）における調査結果〔第2回目〕

1) 救急病棟から分離された MRSA 株と試料
43検体中 *S. aureus* と同定されたものは11検体で，さらにその中から表2に示すごとく6株（No. 17～22）の MRSA が分離された。ICUに入室中の患者Hの喀痰およびベッドシート，ベッド周辺の床などの環境からは MRSA ではなく，MSSA が分離された。また看護職員株からも MRSA は分離されなかった。

救急病棟では，患者Iの褥創とそのガーゼ交換を実施した直後の看護婦Kの手指，および消毒液を使用しない社会的手洗い¹⁵⁾後の手指からも

MRSA が分離された。同様に患者 J の褥創と、そのガーゼ交換を実施した看護婦 L の手指、および社会的手洗い¹⁵⁾後の手指からも MRSA が分離された。しかし社会的手洗い後にウェルパス®を使用した看護婦 K, L の手指からは、MRSA は検出されなかった。

2) 臨床分離 MRSA 株の型別試験

表 3 に MRSA 6 株 (No. 17~22) の薬剤耐性型を示した。a-5 から a-8 の 4 パターンに分類されたが、その差はごくわずかであった。またコアララーゼ型は 6 株ともすべて II 型であった。

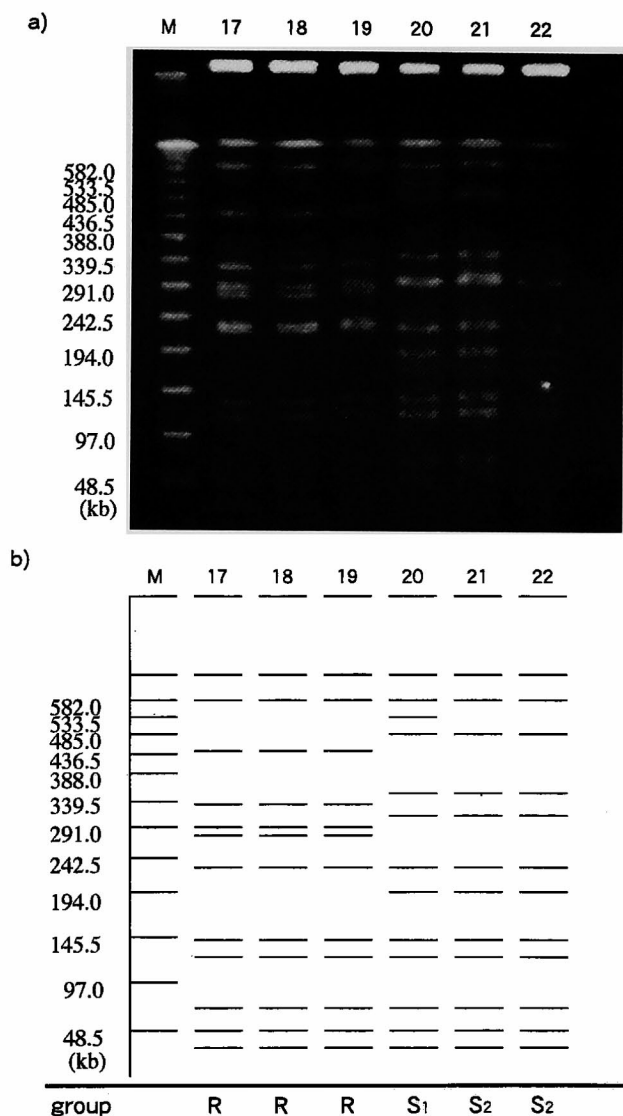


Fig. 5 a). DNA fingerprint analysis of MRSA isolates by PEGE. Chromosomal DNAs were digested with *Sma* I restriction enzyme. Lane M contains the size standards Lambda ladder.

b). Schematic representation of the 6 *Sma* I PFGE fingerprints and their grouping.

3) PFGE 法による型別試験

図 5-a にジーンパスシステムによる PFGE のフィンガープリントを、その図解および分類を図 5-b に示した。

6 株のうちレーン 17, 18, 19 は同種であると考えられグループ R と命名した。さらにレーン 21, 22 は同種、レーン 20 はその近縁種と考えられそれぞれ S₂, S₁ と命名した。すなわち患者 I の褥創ガーゼ由来の菌株の DNA (レーン 17) は、そのガーゼ交換を行った看護婦 K の処置後および社会的手洗い後の手指から分離された菌株の DNA (レーン 18, 19) と一致した。また患者 J の鼠径部褥創ガーゼ由来の菌株 DNA (レーン 20) は、そのガーゼ交換実施後の看護婦 L の手指、および社会的手洗い後の手指から分離された MRSA の DNA (レーン 21, 22) とほぼ同一パターンであった。

以上、救急病棟から分離された MRSA (No. 17~22) のコアグラセ型、薬剤耐性型、DNA 型分類をまとめたものが表 4 である。

3. 外科病棟における調査結果【第 3 回目】

外科病棟における環境、患者、看護職員から採取した 129 検体のうち、患者 M と N からの検体 (褥創、喀痰、尿) および、病室の床、女子便所床面の計 8 検体から *S. aureus* が検出された。しかし 8 株とも全て MSSA であった。

以上、3 回にわたる調査における各回の MRSA 検出状況については表 1 にまとめた。

考 察

重症救急病棟や外科病棟など易感染性の高い患者が多く入院しているところでは、院内感染防止対策が重要となり^{1,7-9)}、なかでも MRSA の交差感染予防対策に向けて種々の検討がされてきた。近年院内感染の感染源やその伝播様式を解明するため菌のプラスミドや染色体 DNA を解析することにより、より確実な疫学データが得られるようになった¹⁰⁻¹²⁾。

そこで著者は、市中病院 ICU における MRSA の生息状況および看護婦の保菌状況について細菌学的調査を実施した。さらに MRSA と判定された菌株間の相同性を検討し、その伝播様式を明らかにするため Gene Path Group I Re-

agent Kit® を使用し、MRSA の分子疫学的調査を実施した。

第 1 回目の ICU における調査では、MRSA 患者 (A) の腹部創から分離された MRSA の PFGE の染色体 DNA パターン (グループ O) は、その患者のベッドシーツ、ベッド下の床面や遠く離れたカウンター前の空气中、そして A 患者を処置した看護婦 D と E の手指から分離された MRSA の DNA パターンと一致した。このことは従来から指摘されているように^{16,17)}、MRSA が医療従事者の手指や空気を介して汚染・伝播したことを示している。次に患者 A の寝衣およびこの患者の処置をした看護婦 F や処置する前の看護婦 E の看護衣と、社会的手洗い¹⁵⁾後の看護婦 D および E の手指から検出された MRSA は、6 株とも同じ DNA パターン (グループ P) であった。これらの由来株は不明であるが、① 以前、患者 A の喀痰から MRSA が検出されていた (この菌株は保存されていない)、② 看護婦は常時この患者の左側から喀痰の吸引を行っていた、③ 今回、MRSA 株は主として患者 A の左側の寝衣から分離された、などのことを考えると、これらの菌はグループは異なるが、同じ患者 A 由来のものと推察された。

このように一人の患者の MRSA が広範囲に ICU を汚染しているという実態が明らかになった。その原因として、① 看護婦が MRSA 患者のケアを予防衣やマスクを装着せずに行った、② 看護婦が素手のままで MRSA 患者のケアを行った、③ ケア後の石けんと水道水による手洗いも不十分であった。加えて④ 室内清掃の不徹底などが考えられた。

この調査結果をもとに、医療現場の院内感染対策委員会および看護補助者を含む看護スタッフ全員に対する院内研修会を開催し、院内におけるスタンダードプリコーション¹⁴⁾を徹底させた。第 1 回目の調査より 8 ヶ月後の第 2 回目の調査では、患者のケアの際の手洗いおよび手指消毒の有効性を検証するため、あえて手袋を装着せず素手でケアを実施した。MRSA 保菌者である患者 I の仙骨部褥創から分離された MRSA の PFGE の染色体 DNA パターンは、その患者を処置した看護婦 K の処置直後および社会的

手洗い¹⁵⁾後の手指から分離されたMRSAのDNAパターン(グループR)と一致した。また患者Jの左鼠径部褥創から分離されたMRSAのDNAパターンは、その患者を処置した看護婦Lの処置後および社会的な手洗い¹⁵⁾後の手指から分離されたMRSAのDNAパターン(グループS)と一致した。しかし両看護婦とも、ウェルバス®使用後の手指からMRSAは分離されず、消毒剤による手洗いの効果が実証され、手袋着用の必要性も認められた。また手指以外の看護職員株および環境株からMRSAは分離されなかった。

さらに2回目の調査より3ヶ月後の外科病棟における調査では、MRSAの臨床分離株は認められなかった。調査前までMRSAが検出されていた患者MおよびNの褥創、喀痰、尿などからMSSAのみが分離されたことは、MRSAに対する薬物治療が効果的に行われた結果であると考えられた。患者M、Nの4検体を除く外科病棟全体(125検体)からもMRSAが検出されなかった。

以上、第1回目の調査から約1年経過した時点で、救急(ICU)および外科病棟からは院内感染の発生がみられていない。これは著者が初回の研究データを臨床現場の医療従事者に示した

結果、既述したような実効ある感染対策をチームで検討し、かつそれを実践に結びつけたことであると考えられた。

院内感染対策は単にその委員会を作り、マニュアルを作成し調査を実施するだけでは、必ずしも十分な成果は得られない。実際の調査結果を公開し、周知徹底把握や視覚による意識の啓蒙が対策の実践化に大きく影響する¹⁸⁾。すなわち調査結果を職員にフィードバックすることは、職員が従来行ってきた感染対策を見直したり、その改善と徹底化を行うための動機づけとなる。有効で効率的な感染対策を継続させるために、感染対策教育は不可欠であるが¹⁹⁻²¹⁾、この動機づけが職員の行動様式を変え、感染率の低減につながっていくと結論された。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、終始御指導いただいた岡山大学医学部細菌学講座小熊恵二教授、岡山県立大学保健福祉学部高井研一教授ならびに岡山大学医学部および岡山県立大学名誉教授金政泰弘先生に深謝いたします。

本研究の一部は、Third International Nursing Research Conferenceで発表した。

文 献

- 1) 品川長夫：院内感染は今、どんな起こり方をしているのか；院内感染を防ぐための看護、横山 隆、岩井重富、品川長夫編、医療ジャーナル社、東京(1995) pp. 16-24.
- 2) 伊藤輝代、平松啓一：MRSAの歴史；MRSA——病院感染を克服するために——、小林寛伊編集、真興交易医書出版部、東京(1996) pp. 8-12.
- 3) 平潟洋一：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、INFECTION CONTROL (1998) 7, 54-58.
- 4) 院内感染対策研究会(代表 蟻田 功)編集：院内感染対策マニュアル(改訂第2版)、南江堂、東京(1993).
- 5) 犬塚和久：院内感染対策と情報整理——環境検査は必要か——、環境感染(1997) 12, 127-133.
- 6) 小林寛伊：院内感染対策体制に関する研究、平成8年度厚生科学研究費補助金、院内感染総合対策研究事業報告書(1997)。
- 7) 太田美智男、一山 智：院内感染対策の考え方と実際、日本細菌学会雑誌(1995) 50, 765-775.
- 8) Pittet D, Herwaldt LA and Massanari RM: The Intensive Care Unit; in Hospital Infections (Third Edition), Bennett JV and Brachman PS edited, Little, Brown and Company, USA (1986) pp. 405-439.
- 9) Ehrenkranz NJ and Meakins JL: Surgical Infections; in Hospital Infections (Third Edition), Bennett

- JV and Brachman PS edited, Little, Brown and Company, USA (1986) pp. 685—710.
- 10) Ichiyama S, Ohta M, Shimokata K, Kato N and Takeuchi J: Genomic DNA fingerprinting by pulsed-field gel electrophoresis as an epidemiological marker for study of nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. (1991) **29**, 2690—2695.
 - 11) Richard V and Goering RV: Molecular epidemiology of nosocomial infection: Analysis of chromosomal restriction fragment patterns by pulsed-field gel electrophoresis. Infection Control And Hospital Epidemiology (1993) **14**, 595—600.
 - 12) 満田年宏, 荒井一二, 川本 進, 横田俊平: パルスフィールドゲル電気泳動法による感染症の分子疫学的解析. 日本細菌学雑誌 (1995) **50**, 1077—1086.
 - 13) Koch MW and Fairly TM: Integrated Quality Management, Mosby, USA (1993) pp. 111—120.
 - 14) Garner JS: Guideline for isolation precautions in hospitals. Infection Control and Hospital Epidemiology (1996) **17**, 54—80.
 - 15) 矢野久子, 小林寛伊: 手洗い: 感染制御学, 小林寛伊編, へるす出版, 東京 (1996) pp. 361—368.
 - 16) 高橋泰子, 田谷千春, 橋本洋子, 佐久間仁子, 宇野光子, 山下多香子: MRSA 感染患者に行った各種ケア後の予防衣および手袋の細菌汚染度比較. 看護研究 (1994) **27**, 30—36.
 - 17) 北島浩美, 花園 淳, 福山由美子, 浦田秀子, 勝野久美子, 田代隆良, 松田淳一, 平潟洋一, 上平 憲: 内科病棟における MRSA を中心とした空中浮遊菌調査. 環境感染 (1997) **12**, 169—173.
 - 18) 金子明寛, 山崎哲夫, 富田文貞, 馬場正道, 小島 勝, 川島千恵子, 金山明子, 小林寅詔: MRSA の環境調査と感染防止対策. 環境感染 (1992) **7**, 15—20.
 - 19) 遠藤和郎: 感染管理の教育をどう考えるか. INFECTION CONTROL (1998) **7**, 14—17.
 - 20) 千田好子: 米国における感染対策専門職制度に関する研究. 看護研究 (1996) **29**, 63—73.
 - 21) Wenzel RP, Reagan DR, Berton JS, Baron EJ and Arias K: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak: A consensus panel's definition and management guidelines. American Journal of Infection Control (1998) **26**, 102—110.

**Bacteriological and molecular epidemiological investigation
on nosocomial infection caused by
Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
and its prevention**

Yoshiko SENDA

Department of Bacteriology

Okayama University Medical School

Okayama 700-8558, Japan

(Director : Prof. Keiji Oguma)

The colonization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was investigated in a private hospital three times for one year in an attempt to prevent the MRSA transmission. Total 22 MRSA strains were isolated. The pulse field gel electrophoresis (PFGE) was performed to investigate the route of transmission (infection way) in addition to characterize their bacteriological properties. Since the PFGE profiles were identical or very similar between the strain isolated from a patient and those from several nurses' hands and clothing cared for patient, the standard precautions including handwashing and gown technique have been performed. No transmission of MRSA through medical staff has been investigated in this hospital afterward. Therefore, it was confirmed that the epidemiological investigation and its educational direction contribute to prevent the nosocomial infection of MRSA.