

原 著

日本全国の医療施設から分離されたMRSAの分子疫学的検討

—施設や地域を越えた同一菌の広がりがあったのか—

島内千恵子¹⁾, 重田真里²⁾, 毛利千祥¹⁾, 勝野絵梨奈¹⁾
川口真紀子^{2, 3)}, 井田孝志⁴⁾, 橘 宣祥¹⁾, 井上松久⁵⁾

【抄録】

1990年代の初め日本全国の病院でメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) の院内感染が問題となったが, 施設や地域を超えて同一菌株が広がったのか, 各施設で異なる菌株が流行していたのか, 明かではない。そこで, 1992~93年MRSA全国調査で, 39医療施設から集めた872株のうち, 保存状態が良好であった866株について, コアグラーゼ (coagulase) 型, 薬剤耐性を再検査し, エンテロトキシン (enterotoxin) 型(A~D), toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1)産生性を調べ, 染色体DNAを制限酵素*Sma* I で切断後, パルスフィールド電気泳動(PFGE)を行った。

enterotoxin型, TSST-1産生性をcoagulase型と組み合わせると, coagulase II型, enterotoxin (staphylococcal enterotoxin: SE) C型, TSST-1産生のcoagulase II SE C + TSST-1型が, 全866株の49.2%を占めた。地域別にみると, この型が, 中部以東では59%以上であったが, 近畿では6.9%, 中国・四国・九州では21.4~42.0%であった。一方, coagulase II SE A + SE C + TSST-1型が, 近畿で34.7%, 関東で21.7%, 中国で15.7%みられたが, 他の地域では9.0%以下であった。

PFGE型は, 全く同一のものを1種類とした場合, 343種類検出された。114種類が複数の株から検出され, うち64種類は一施設内からのみ, 50種類は複数の施設から検出された。関東・中部・近畿・九州の4地方9都府県にわたる14施設から82株検出された型や, 関東・中部・九州の3地方6都県の12施設から59株検出された型, 北海道, 関東, 中部, 中国の4地方7都道県の12施設から28株検出された型もあり, 施設や地域を越えて同一菌株が伝播していた可能性が示唆された。また, 5株以上検出された検出頻度の高い28種類のPFGE型の菌株が, 計413株と全866株の47.7%を占めていた。PFGE型が同一の株は, coagulase型, enterotoxin型, TSST-1産生性, 薬剤耐性が概ね同じであった。

【キーワード】 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA), コアグラーゼ型, 毒素産生性,
パルスフィールド電気泳動 (PFGE), 薬剤耐性

1) 宮崎県立看護大学, 2) 元宮崎県立看護大学,
3) 宮崎大学医学部病理学講座腫瘍・再生病態学分野
4) 明治製菓株式会社 医薬総合研究所, 5) 北里大学

I 序論

1980年代後半から1990年代はじめ、日本全国の医療施設で黄色ブドウ球菌に占めるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) の分離頻度が50%以上に増加し、以後MRSAの院内感染は社会的にも問題となっている。このようにMRSAが全国規模で拡大した背景には、薬剤の使用、交差感染などの要因が考えられている。

一方、菌株の異同を識別し交差感染の有無を検討する方法として、黄色ブドウ球菌の場合、従来は、薬剤耐性、コアグララーゼ型、エンテロトキシン型、toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1)産生性、ファージ型などが用いられてきた。しかし、1990年代中頃から、菌の染色体を制限酵素で切断してパルスフィールド電気泳動(PFGE; pulsed-field gel electrophoresis)が行なわれるようになり、菌株の異同を最もよく識別できる方法^{1~3)}として広く用いられるようになった。その結果PFGEにより、各地の病院内で患者、医療従事者などから分離されるMRSAの異同が明らかになり、交差感染の有無などの院内感染の実態が明らかにされてきている^{3~19)}。

しかし、病院や地域を越えた全国的な菌株のPFGEによる検討は、行われておらず、病院間や地域間で、同一の菌の広がりがあるかどうか、即ち、施設や地域を超えての菌の伝播があるかどうかについては全国的にMRSAが問題となった1990年頃も現時点でも明らかではない。同様に、同一施設内の菌株について、従来の表現型とPFGEの遺伝子型の比較検討は行われている^{6, 7)}が、病院や地域を越えた全国的な検討は行われていない。

日本のMRSAがコアグララーゼII型に集中する中で、エンテロトキシン型は、比較的分散しており、疫学マーカーとして有用であるとも言われている²⁰⁾。そこで、既に薬剤耐性、コアグララーゼ型について報告した1992~93年MRSA全国調査²¹⁾で、34施設の協力により39医療施設から集めた872株のうち、保存状態が良好な866株について、エンテロトキシン型

(A~D)、TSST-1産生性を調べ、染色体DNAを制限酵素 *Sma* I で切断後、パルスフィールド電気泳動(PFGE)を行った。その結果から、毒素産生性に地域的な差があるか、病院間や地域間、全国で同一の菌の広がりがあるかどうか、また、疫学マーカー間の関係を検討した。

II 材料と方法

1. 使用菌株

既に薬剤耐性、コアグララーゼ型について報告した1992~93年のMRSA全国調査²¹⁾で、34の施設の協力により39施設から集めた872株のうち、保存状態が良好なMRSA 866株を用いた。地方・都道府県別の施設数と菌株数をTable 1に示した。

Table 1. Number of hospitals and strains by area and prefecture

| Area | Prefecture | No. of hospitals | No. of strains |
|----------|------------|------------------|----------------|
| Hokkaido | Hokkaido | 1 | 35 |
| Tohoku | Miyagi | 1 | 12 |
| Kanto | Ibaraki | 3 | 51 |
| | Gunma | 1 | 12 |
| | Chiba | 1 | 43 |
| | Tokyo | 10 | 204 |
| | Kanagawa | 4 | 72 |
| Chubu | Niigata | 1 | 39 |
| | Aichi | 3 | 55 |
| | Gifu | 1 | 49 |
| Kinki | Osaka | 2 | 33 |
| | Kyoto | 1 | 2 |
| | Wakayama | 1 | 28 |
| | Hyogo | 1 | 38 |
| Chugoku | Okayama | 1 | 19 |
| | Hiroshima | 2 | 51 |
| Shikoku | Kagawa | 1 | 23 |
| Kyushu | Fukuoka | 1 | 30 |
| | Nagasaki | 3 | 70 |
| Total | | 39 | 866 |

2. エンテロトキシン型, TSST-1産生性

逆受身ラテックス凝集反応によるブドウ球菌エンテロトキシン (A~D) 検出用キットSET-RPLA (デンカ生研), TSST-1検出用キットTST-RPLA (デンカ生研) を用い, 製品に添付された手順書に従って検査を行った。

3. コアグララーゼ型

ブドウ球菌コアグララーゼ型別免疫血清 (デンカ生研) を使用し, 製品に添付された手順書に従って再検査した。

4. 薬剤耐性

日本化学療法学会標準法に準じた寒天平板希釈法に基づき, 感受性測定用ブイヨン (日水) で1夜培養後, $3\sim 5 \times 10^6$ cfu/mLに希釈した菌液を薬剤含有感受性ディスク用培地-N(日水)にマイクロプランター (佐久間製作所) で5 μ L接種し, 35°C18~20時間培養後判定した。使用した薬剤とその耐性限界値は, Erythromycin (EM: SIGMA) 0.5 μ g/mL, Rokitamycin (RKM: 旭化成) 4 μ g/mL, Streptomycin (SM: 明治製菓) 16 μ g/mL, Lividomycin (LVDM: 興和) 32 μ g/mL, Gentamicin (GM: SIGMA) 4 μ g/mL, Kanamycin (KM: SIGMA) 32 μ g/mL, Tobramycin (TOB: SIGMA) 4 μ g/mL, Arbekacin (ABK: 明治製菓) 4 μ g/mL, Tetracycline (TC: 和光) 4 μ g/mL, Minocycline (MINO: SIGMA) 1 μ g/mL, Chloramphenicol (CP: SIGMA) 8 μ g/mL, Ofloxacin (OF LX: SIGMA) 8 μ g/mLである。

5. ペニシリナーゼ産生性

ヨード・デンプン法により, 既報²²⁾に従いペニシリナーゼ (PCase) 産生性を確認した。被検菌はCeftizoxime (CZX: 藤沢薬品工業) 32 μ g/mL含有寒天平板でPCaseを誘導産生させたものを基質としてBenzylpenicillin (PCG: 萬有製薬)を用い確認した。

6. パルスフィールド電気泳動(PFGE; pulsed-field gel electrophoresis)

各菌のブレインハートインヒュージョンブイヨン (日水) 35°C一夜培養液0.5mLから菌体を回収し, 130 μ LのPett IV solution (1 M NaCl, 10mM EDTA) に懸濁後, 5 μ g (15units)のリゾスタフィン (和光純薬) を加え, 130 μ Lの2% InCert agarose (FMC) に混ぜ, 厚さ0.75mmのゲルモールドに流し込み固めた。このゲルプラグを 5 μ g/mLのリゾスタフィンを含むlysis solution (1 M NaCl, 0.1 M EDTA, 10 mM Tris-HCl, 0.5% Brij 58, 0.2% deoxycholate, 0.5% Sarkosyl, pH 8.0)の中に入れ, 37°Cで1時間反応させて溶菌させた。さらにproteinase K (和光純薬) 100 μ g/mLを含むES solution (1% sarkosyl, 0.25% EDTA, pH8.0)で, 50°Cで15~20時間反応させ, たんぱく質を消化した。その後, 1mM phenylmethyl-sulfonyl fluoride (和光純薬) を含むTE (10mM Tris-1mM EDTA, pH8.0) buffer中で, 室温で4時間反応させproteinase Kを除去した。TE buffer (pH8.0) で平衡化したゲルプラグを電気泳動に使用する大きさに切断した後, これを制限酵素反応用bufferに移し, 1プラグあたり15unitsのSma I (タカラ) を用いて30°C一夜酵素反応を行った。次に100mM EDTA (pH 8.0) を加えて反応を止めたゲルプラグを泳動用1% Gold Agarose (FMC) に埋め込み, CHEF Mapper (Bio-Rad) にて, 14°C, 0.5 \times TBE bufferを用い, Auto Algorithm Modeで, molecular weight 10~700kbに設定し, gradient 6.0V/cm, included Angle 120°, Int. Sw. Time 0.47秒, Fin. Sw. Time 1分3.8秒で, 20時間18分電気泳動を行った。泳動終了後, エチジウムブロマイドで染色し, 紫外光で写真を撮った。

PFGEは, その性質上電気泳動に歪みがあり, また, 同じ泳動条件でも歪みの状態が異なり, 同じDNA断片の泳動距離が完全には同じにならないことが多い。そのため, 異なる電気泳動ゲルや同じゲル内でも離れたレーンの菌株のDNAについて, 正確に同一性を

みることは難しい。そこで、PFGE型が同一とみられた菌株については、隣接させて再度電気泳動を行い、同一であることを確認した。

III 結果

1. エンテロトキシン型, TSST-1産生性

地方別のエンテロトキシン型, TSST-1産生性を Table 2に示した。

エンテロトキシンC型が, 全866株の50.7%で, 地域別にみると中部以東では60%以上を占めていたが, 近畿では6.9%, 中国・四国・九州では31.4~42.0%であった。AC型が, 全体では16.6%, 近畿では34.7%, 関東では21.5%, 中国では15.7%みられたが, 他の地域では10%以下であった。エンテロトキシンA~D非産生株は, 全体で11.9%みられ, 九州で32.0%と多かったが, 他の地域では0~16.8%であった。A

型は, 全体では7.3%, 近畿では25.7%みられたが, 他の地域では15%以下であった。B型は, 全体では5.9%, 中国では20.0%みられたが, 他の地域では9%以下であった。

TSST-1産生株は, 全体では72.9%で, 関東以北では85%以上を占めていたが, 近畿と中国では40%前後, 四国と九州では約60%と西日本では少ない傾向にあった。

2. コアグララーゼ型とエンテロトキシン型, TSST-1産生性

コアグララーゼ型とエンテロトキシンstaphylococcal enterotoxin(SE)型, TSST-1産生性の関係を見ると (Table 3), コアグララーゼII型では, SE C型, TSST-1産生株のSE C + TSST-1が56.6%と最も多く, ついでSE A + SE C + TSST-1が19.0%, SE B型, TSST-1非産生のSE Bが6.3%, SE 非産生・TSST-

Table 2. Enterotoxin type and TSST-1 production of MRSA in different areas of Japan

| Area | No. of strains tested | No. of strains (%) | | | | | | | | | | | | | |
|----------|-----------------------|--------------------|--------------|---------------|------------|-------------|---------------|-------------|------------|------------|------------|---------------|---------------|---------------|--|
| | | Enterotoxin type | | | | | | | | | | | TSST-1 | | |
| | | A | B | C | D | AB | AC | BC | CD | ABC | ACD | - | + | - | |
| Hokkaido | 35 | 5 (14.3) | | 27 (77.1) | | | | 3 (8.6) | | | | | 30 (85.7) | 5 (14.3) | |
| Tohoku | 12 | | 1 (8.3) | 10 (83.3) | | | | | 1 (8.3) | | | | 11 (91.7) | 1 (8.3) | |
| Kanto | 382 | 6 (1.6) | 15 (3.9) | 236 (61.8) | | 2 (0.5) | 82 (21.5) | 13 (3.4) | | 1 (0.3) | 1 (0.3) | 26 (6.8) | 340 (89.0) | 42 (11.0) | |
| Chubu | 143 | 12 (8.4) | 3 (2.1) | 87 (60.8) | 3 (2.1) | | 7 (4.9) | 13 (9.1) | | | | 18 (12.6) | 105 (73.4) | 38 (26.6) | |
| Kinki | 101 | 26 (25.7) | 9 (8.9) | 7 (6.9) | | 5 (5.0) | 35 (34.7) | 2 (2.0) | | | | 17 (16.8) | 45 (44.6) | 56 (55.4) | |
| Chugoku | 70 | 7 (10.0) | 14 (20.0) | 22 (31.4) | | 9 (12.9) | 11 (15.7) | | | | | 7 (10.0) | 27 (38.6) | 43 (61.4) | |
| Shikoku | 23 | | 2 (8.7) | 8 (34.8) | 2 (8.7) | 3 (13.0) | | 5 (21.7) | | | | 3 (13.0) | 14 (60.9) | 9 (39.1) | |
| Kyushu | 100 | 7 (7.0) | 7 (7.0) | 42 (42.0) | 1 (1.0) | | 9 (9.0) | 2 (2.0) | | | | 32 (32.0) | 59 (59.0) | 41 (41.0) | |
| Total | 866 | 63 (7.3) | 51 (5.9) | 439 (50.7) | 6 (0.7) | 19 (2.2) | 144 (16.6) | 38 (4.4) | 1 (0.1) | 1 (0.1) | 1 (0.1) | 103 (11.9) | 631 (72.9) | 235 (27.1) | |

Table 3. Coagulase type and enterotoxins, TSST-1 production of MRSA

| Toxin | Coagulase type | | | | | | Total (%) |
|-----------------------------|----------------|------------|-----------|-----------|-----------|----------|------------|
| | I | II | III | IV | VII | N.I. | |
| SE A | | 16 (2.1) | | 31 (86.1) | 9 (36.0) | 5 (21.7) | 61 (7.0) |
| SE B | | 47 (6.3) | 3 (10.3) | | | 1 (4.3) | 51 (5.9) |
| SE C | | 7 (0.9) | | | | 3 (13.0) | 10 (1.2) |
| SE D | | 3 (0.4) | 3 (10.3) | | | | 6 (0.7) |
| SE A + SE B | | 15 (2.0) | | | 1 (4.0) | | 16 (1.8) |
| TSST-1 | | 10 (1.3) | 1 (3.4) | 1 (2.8) | | | 12 (1.4) |
| SE A + TSST-1 | | 2 (0.3) | | | | | 2 (0.2) |
| SE C + TSST-1 | | 426 (56.6) | | | | 3 (13.0) | 429 (49.5) |
| SE A + SE B + TSST-1 | | 2 (0.3) | | | | 1 (4.3) | 3 (0.3) |
| SE A + SE C + TSST-1 | | 143 (19.0) | | | | 1 (4.3) | 144 (16.6) |
| SE B + SE C + TSST-1 | | 36 (4.8) | 1 (3.4) | | | 1 (4.3) | 38 (4.4) |
| SE C + SE D + TSST-1 | | 1 (0.1) | | | | | 1 (0.1) |
| SE A + SE B + SE C + TSST-1 | | 1 (0.1) | | | | | 1 (0.1) |
| SE A + SE C + SE D + TSST-1 | | 1 (0.1) | | | | | 1 (0.1) |
| no toxin | 1 (100) | 42 (5.6) | 21 (72.4) | 4 (11.1) | 15 (60.0) | 8 (34.8) | 91 (10.5) |
| Total | 1 | 752 | 29 | 36 | 25 | 23 | 866 |

SE : Staphylococcal enterotoxin

N.I. : Not identified

1非産生 (no toxin) が5.6%, SE B + SE C + TSST-1が4.8%であった。コアグララーゼⅢ型では, no toxinが72.4%と最も多く, SE B, SE D型もそれぞれ10.3%みられた。コアグララーゼⅣ型は, SE Aが86.1%と最も多く, no toxinも11.1%みられた。コアグララーゼⅦ型は, no toxinが60%と最も多く, ついでSE Aが36.0%であった。合計では, SE C + TSST-1が49.5%で最も多く, ついでSE A + SE C + TSST-1が16.6%, no toxinが10.5%, SE Aが7.0%であった。

コアグララーゼ型, エンテロトキシン型, TSST-1産生性を組み合わせると (Table 4), coagulase II型, エンテロトキシン (SE) C型, TSST-1産生の coagulase II SE C + TSST-1型が, 全866株の49.2%を占めた。地方別にみると, このcoagulase II SE C + TSST-1型が, 中部以東では59.4%以上であったが, 近畿では6.9%, 中国・四国・九州では21.4~42.0%であった。また, coagulase II SE A + SE C + TSST-1型が, 全体の16.5%, 近畿で

34.7%, 関東で21.5%, 中国で15.7%みられたが, 他の地域では9.0%以下であった。coagulase II SE B型が, 全体の5.4%, 中国で20.0%みられた。coagulase II no toxin型が, 全体の4.8%, 近畿では14.9%みられた。

3. パルスフィールド電気泳動 (PFGE)

PFGE型は, 全く同一のものを1種類とした場合, 343種類が検出された。このうち229種類の型は1株のみ検出され, 114種類の型が複数 (2~82) の株から検出された。64種類の型は一施設内からのみ, 50種類の型は複数の施設から検出された。調べた39施設中, 37施設からは別の施設と同一のPFGE型の菌株が検出されていた。

5株以上から検出されたPFGE型はFig.1に左から検出株数の多い順に示した28通りで, それぞれの検出株数, 検出施設数とその内訳をTable 5に示した。優勢な28通りのPFGE型の菌が検出されたのは, 39施設中35施設であり, Table 5にはその35施設の検

Table 4. Frequency distribution of isolated types of MRSA in different areas of Japan

| Area | No. of strains tested | No. of strains (%) | | | | | | | | | |
|----------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|--------------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------|---------------|--|--|
| | | Coagulase II SEA+SEC+TSST-I | Coagulase II SEB | Coagulase II SEB+SEC+TSST-I | Coagulase II SEC+TSST-I | Coagulase II no toxin | Coagulase III no toxin | Coagulase IV SEA | Others | | |
| Hokkaido | 35 | | 3 (8.6) | 27 (77.1) | | | | 5 (14.3) | | | |
| Tohoku | 12 | 1 (8.3) | | 10 (83.3) | | | | | 1 (8.3) | | |
| Kanto | 382 | 82 (21.5) | 15 (3.9) | 12 (3.1) | 232 (60.7) | 17 (4.5) | 2 (0.5) | 2 (0.5) | 20 (5.2) | | |
| Chubu | 143 | 6 (4.2) | 3 (2.1) | 12 (8.4) | 85 (59.4) | 10 (7.0) | 5 (3.5) | 11 (7.7) | 11 (7.7) | | |
| Kinki | 101 | 35 (34.7) | 9 (8.9) | 2 (2.0) | 7 (6.9) | 15 (14.9) | | | 33 (32.7) | | |
| Chugoku | 70 | 11 (15.7) | 14 (20.0) | | 15 (21.4) | | 2 (2.9) | 6 (8.6) | 22 (31.4) | | |
| Shikoku | 23 | 1 (4.3) | | 5 (21.7) | 8 (34.8) | | 3 (13.0) | | 6 (26.1) | | |
| Kyushu | 100 | 9 (9.0) | 4 (4.0) | 2 (2.0) | 42 (42.0) | | 9 (9.0) | 7 (7.0) | 27 (27.0) | | |
| Total | 866 | 143 (16.5) | 47 (5.4) | 36 (4.2) | 426 (49.2) | 42 (4.8) | 21 (2.4) | 31 (3.6) | 120 (13.9) | | |

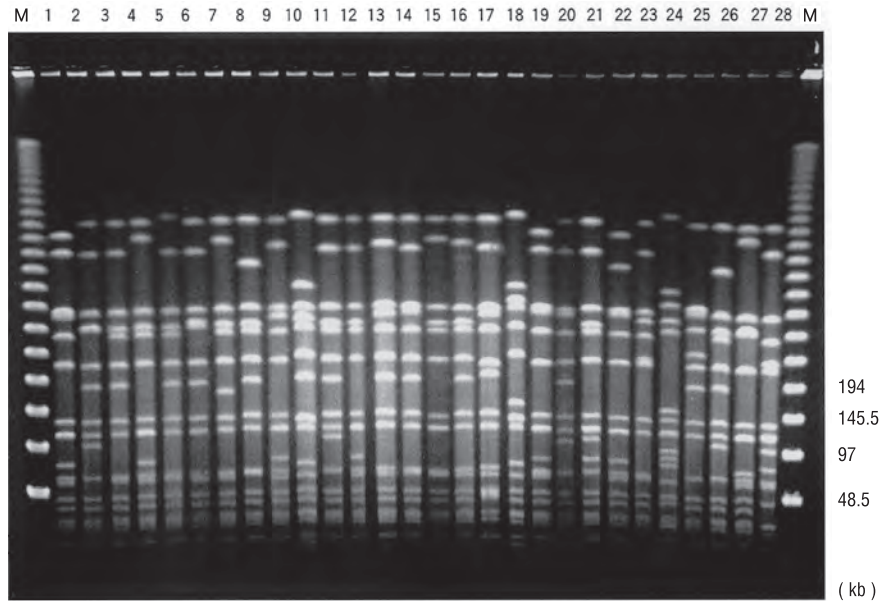


Fig.1 Major pulsed-field gel electrophoresis(PFGE) types of *Sma* I-digested genomic MRSA isolated in hospitals all over Japan in 1992-93

Lane M : Lambda Ladder

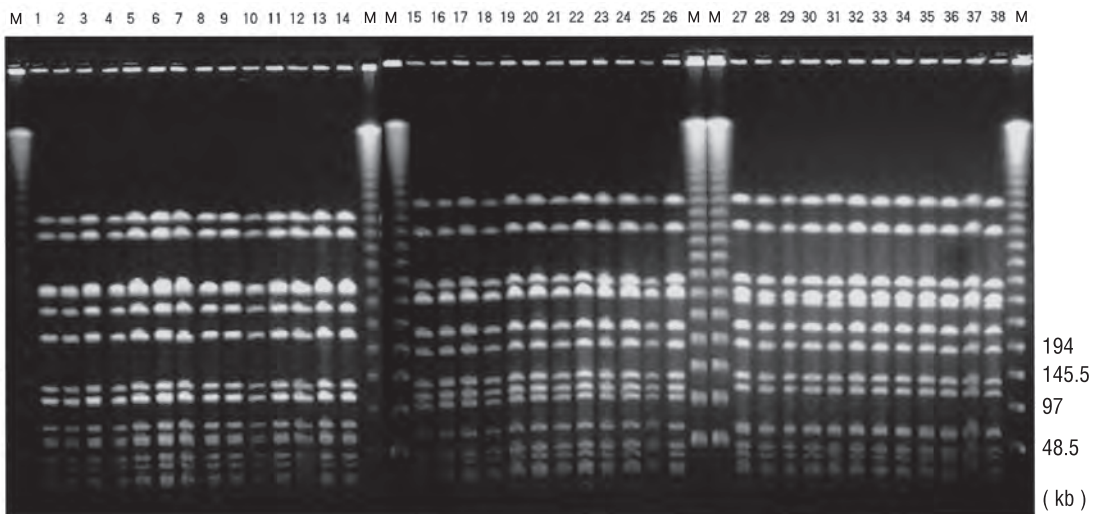


Fig.2 The same pulsed-field gel electrophoresis(PFGE) types of *Sma* I-digested genomic MRSA isolated in hospitals all over Japan (1992-1993)

Lane numbers : M, Lambda Ladder ; 1, isolated in Tokyo hospital a ; 2, Tokyo hospital b ; 3, Tokyo hospital c ; 4, Tokyo hospital e ; 5, Tokyo hospital j ; 6, Chiba hospital a ; 7, Ibaraki hospital a ; 8, Ibaraki hospital b ; 9, Gunma hospital a ; 10, Niigata hospital a ; 11, Osaka hospital a ; 12, Wakayama hospital a ; 13, Fukuoka hospital a ; 14, Nagasaki hospital a ; 15, Tokyo hospital a ; 16, Tokyo hospital e ; 17, Tokyo hospital f ; 18, Tokyo hospital h ; 19, Tokyo hospital i ; 20, Tokyo hospital j ; 21, Kanagawa hospital a ; 22, Ibaraki hospital c ; 23, Aichi hospital a ; 24, Aichi hospital b ; 25, Gifu hospital a ; 26, Nagasaki hospital a ; 27, Hokkaido hospital a ; 28, Tokyo hospital a ; 29, Tokyo hospital b ; 30, Tokyo hospital c ; 31, Tokyo hospital e ; 32, Tokyo hospital j ; 33, Chiba hospital a ; 34, Ibaraki hospital a ; 35, Ibaraki hospital c ; 36, Niigata hospital a ; 37, Hiroshima hospital b ; 38, Okayama hospital a.

Table 5. Major PFGE types of MRSA in different areas and hospitals in Japan

| PFGE type | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 8 | 9 | 10 | 10 | 11 | 10 | 10 | 10 | 10 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | | | | | |
|---|------------|----------|----------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--|--|--|--|
| No. of strains from each PFGE type | | 82 | 59 | 28 | 21 | 20 | 20 | 17 | 13 | 11 | 11 | 11 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | | | | |
| No. of hospitals in which each PFGE type was detected | | 14 | 12 | 12 | 8 | 7 | 6 | 4 | 8 | 5 | 3 | 6 | 4 | 3 | 2 | 3 | 5 | 2 | 3 | 2 | 1 | 5 | 3 | 3 | 2 | 1 | 5 | 3 | 3 | 3 | 1 | 4 | 2 | 1 | | | | | |
| Area | Prefecture | Hospital | No. of strains | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hokkaido | Hokkaido | a | 6 | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Miyagi | a | | | | | 1 | | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Ibaraki | a | 5 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 6 | | | | | | | | | | | | | | |
| Kanto | Ibaraki | b | 7 | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | c | 17 | | 2 | 1 | 4 | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | a | 12 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Gunma | a | 43 | 12 | | | 1 | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | a | 20 | 4 | 2 | 1 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | a | 23 | 3 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tokyo | b | 10 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | c | 10 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | d | 29 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Kanagawa | e | 30 | 1 | 2 | 5 | 1 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | f | 23 | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | g | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Chubu | Aichi | h | 22 | | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | i | 14 | | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | j | 30 | 2 | 3 | 2 | 7 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Kinki | Osaka | a | 49 | 11 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | b | 14 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | c | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Chugoku | Hiroshima | d | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | a | 39 | 3 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | a | 49 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Shikoku | Tokushima | b | 3 | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | a | 49 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | a | 27 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Kyushu | Nagasaki | a | 28 | 25 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | a | 38 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | a | 19 | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Nagasaki | Nagasaki | a | 14 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | b | 37 | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | a | 23 | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Nagasaki | Nagasaki | a | 30 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | a | 63 | 7 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | b | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Table 6. Coagulase type, enterotoxin type, TSST-1 production and drug resistance in relation to major PFGE type of MRSA

| PFGE type | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | | |
|-------------------------------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| No. of isolates from each PFGE type | 82 | 59 | 28 | 21 | 20 | 20 | 17 | 13 | 11 | 11 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 8 | 8 | 7 | 7 | 7 | 6 | 6 | 6 | 6 | 5 | 5 | 5 | 5 | | |
| Coagulase type | II | 100 | 96.6 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 90.9 | | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 85.7 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | |
| | IV | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 100 | | | | | | | |
| | VII | | | | | | | | 63.6 | | | | | | | | 85.7 | | | | | | | | | | | | | |
| | N.I. | | 3.4 | | | | | | 9.1 | 36.4 | | | | | | | 14.3 | 14.3 | | | | | | | | | | | | |
| Enterotoxin type | A | 12.2 | | | | | | | 100 | | | | | | | | | | | | | | 100 | | | | | | | |
| | C | 1.2 | 100 | 92.9 | 19.0 | 100 | 100 | 92.3 | 9.1 | | 80.0 | 50.0 | 100 | 88.9 | 37.5 | | | | 100 | 33.3 | 16.7 | 100 | | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | |
| | AC | 84.1 | | | 81.0 | | | | 9.1 | | | 50.0 | | 11.1 | | | | 100 | | 50.0 | 66.7 | | | | | | | | | |
| | BC | | | 7.1 | | | | | 81.8 | | | | 100 | | 37.5 | | | | | | | 16.7 | | | | | | | | |
| | CD | | | | | | 7.7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | ACD | 1.2 | | | | | | | | | | | | | | 25.0 | 100 | 100 | | | | | | | | | | | | |
| | (A~D)- | 1.2 | | | | | | | | 20.0 | | | | | | | | | | | 16.7 | | | | | | | | | |
| TSST-1 | + | 87.8 | 98.3 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | | | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | - | 12.2 | 1.7 | | | | | | | 100 | | | | | | | 100 | 100 | | | | | 100 | | | | | | | |
| Antimicrobial resistance | PCase + | 6.1 | 88.1 | 92.9 | 19.0 | 90.0 | 100 | 82.4 | 100 | 100 | 90.0 | 10.0 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 28.6 | 85.7 | 83.3 | 0 | 66.7 | 100 | 100 | 80.0 | 80.0 | 80.0 | 80.0 | 80.0 |
| | EM 0.5 * | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 90.9 | 27.3 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 14.3 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | RKM 8 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 90.9 | 27.3 | 100 | 90.0 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 14.3 | 100 | 100 | 83.3 | 100 | 100 | 83.3 | 100 | 83.3 | 100 | 100 | 20.0 | 20.0 |
| | SM 16 | 3.7 | 0 | 0 | 0 | 5.0 | 0 | 15.4 | 0 | 72.7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 16.7 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | LVDM 32 | 1.2 | 1.7 | 3.6 | 0 | 15.0 | 5.0 | 0 | 15.4 | 0 | 10.0 | 10.0 | 0 | 10.0 | 11.1 | 0 | 100 | 0 | 0 | 14.3 | 16.7 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | GM 4 | 90.2 | 44.1 | 42.9 | 57.1 | 85.0 | 25.0 | 17.6 | 69.2 | 54.5 | 100 | 60.0 | 40.0 | 90.0 | 0 | 25.0 | 100 | 100 | 42.9 | 14.3 | 33.3 | 100 | 16.7 | 100 | 0 | 20.0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | KM 32 | 98.8 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 71.4 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 80.0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | TOB 4 | 98.8 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 71.4 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 80.0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | ABK 4 | 9.8 | 5.1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 72.7 | 0 | 10.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 75.0 | 85.7 | 14.3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | TC 4 | 100 | 100 | 0 | 9.5 | 100 | 80.0 | 0 | 7.7 | 100 | 100 | 0 | 100 | 100 | 0 | 62.5 | 100 | 100 | 57.1 | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 | 100 | 100 | 0 | 100 | 0 | 0 |
| | MINO 1 | 98.8 | 83.1 | 0 | 19.0 | 100 | 60.0 | 0 | 100 | 100 | 0 | 100 | 90.0 | 0 | 62.5 | 100 | 100 | 100 | 57.1 | 100 | 0 | 100 | 0 | 83.3 | 16.7 | 0 | 100 | 0 | 100 | 0 |
| | CP 8 | 0 | 0 | 3.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 45.5 | 0 | 0 | 0 | 90.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 14.3 | 14.3 | 85.7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 80.0 | 0 | 80.0 | 0 |
| | OFLX 8 | 98.8 | 91.5 | 71.4 | 33.3 | 95.0 | 90.0 | 100 | 53.8 | 0 | 100 | 70.0 | 60.0 | 60.0 | 90.0 | 87.5 | 100 | 100 | 100 | 100 | 66.7 | 100 | 100 | 50.0 | 100 | 60.0 | 80.0 | 80.0 | 20.0 | 20.0 |

N.I. : Not identified *Break point(μ g/mL)

(%)

出状況を示した。最も多く検出されたPFGE No.1は、関東・中部・近畿・九州の4地方9都府県にわたる14施設から82株検出された。PFGE No.2は、関東・中部・九州の3地方6都県の12施設から59株検出され、PFGE No.3は北海道、関東、中部、中国の4地方7都道県の12施設から28株検出された。各施設から検出されたPFGE型 No.1, 2, 3の菌株のPFGEをFig. 2に示した。No.4から28までのPFGE型のうち、No. 20, 25, 28は、検出された施設が1施設であったが、その他は2～8の施設から検出されていた。

PFGE No.1から28の菌株は計413株あり、全866株の47.7%を占めていた。

4. パルスフィールド電気泳動 (PFGE) 型とコアグララーゼ型, エンテロトキシン型, TSST-1産生性, 薬剤耐性

5株以上検出された28通りのPFGE型の菌株について、コアグララーゼ型, エンテロトキシン型, TSST-1産生性, 薬剤耐性の割合をPFGE型ごとにTable 6に示した。

同一PFGE型の菌の場合、コアグララーゼ型は、特定の1種類または型別不能で、異なるコアグララーゼ型が同一PFGE型の菌から検出されることはなかった。Table 6には示していない同一PFGE型の菌が2～4株検出された場合も、コアグララーゼ型については同様であった。

エンテロトキシン型は、同一PFGE型の場合、C型, AC型, BC型, 非産生など特定の型の占める割合が多く、PFGE型 No.1では、AC型84.1%, A型12.2%, C型, ACD型, (A～D) 非産生1.2%とAまたはCを産生しており、100%一致してはいなかったが関係性はみられた。

TSST-1産生性は、PFGE No.1, 2のように一部例外もあるが、同一PFGE型の場合ほぼ一致していた。

ペニシリンナーゼ (PCase) 産生性, 各薬剤に対する耐性の有無は、同一PFGE型の場合、耐性率100%または0%で一致、80%以上または20%以下でほぼ一致しているものが多い。しかし、GM, OFLX

などは、耐性率が20～80%の場合が比較的多く、同一PFGE型の菌株でも、薬剤耐性の有無が異なる場合がみられた。

エンテロトキシンAC型の株が過半数を占めているPFGE No.1, 4, 12, 19, 21, 22のうち21以外の型は、PCase産生株が20%以下と少なかった。全866株中、エンテロトキシンAC型の菌株は144株あったが、このうちPCase産生株は17株 (11.8%) で、PCase非産生株127株 (88.2%) に比べ少なかった。

IV 考察

MRSAのエンテロトキシン型について、多施設を対象とした全国的な調査報告は少ないが、1990年沖縄県を除く全国から分離された1,047株について出口らは、A型22.8%, B型10.5%, C型54.9%, その他11.7%と報告している²³⁾。本研究で調べた1992～93年全国19都道府県から分離された866株の場合、C型は50.7%と同程度であったが、A型とB型は、それぞれ7.3%, 5.9%とやや少なかった。一方、AC型が16.6%で、出口らの報告の10株 (1.0%) に比べ多かった。

金山らは、1993～94年全国23都道府県の病院で分離されたMRSA 100株のエンテロトキシン型について地方別に集計し、C型が、北海道100%, 東北83.3%, 関東72.9%, 中部・近畿50.0%, 中国・四国53.8%と高頻度に認められたが、九州では9.1%と少なく、九州では81.8%がエンテロトキシン非産生株であったと報告している²⁴⁾。

本研究の結果では、C型が中部以東では60.8%から83.3%と同様に高頻度に認められたが、近畿では6.9%と少なく、中国は31.4%, 四国は34.8%とやや少なく、九州は42.0%と比較的多かった。また、近畿では、AC型が34.7% (35株) と多かったが、和歌山県a病院で、PFGE型No.1エンテロトキシンAC型の菌が28株中16株検出されており、この株が重複していることも影響していると考えられる。さらに、近畿では、A型も25.7% (26株) と多かったが、和

歌山県a病院で、PFGE型No.1エンテロトキシンA型の菌が9株検出されており、この株が重複していることも影響していると考えられる。

MRSAのTSST-1産生性について、金山らも上述の報告で、関東以東では83%以上と高率であり、中部・近畿・中国・四国では50~60%、九州では9.1%であったと述べている²⁴⁾。九州を除くと本研究結果とほぼ同じであり、この時期東日本の方が西日本に比べ、MRSAのTSST-1産生率が高かったと言える。

木村らは、1990年全国国立大学病院43施設から分離されたMRSA 252株のコアグラウゼ型と毒素産生性について報告しており、エンテロトキシン型とTSST-1産生性を組み合わせると、SE C + TSST-1型が34.9%、SE A型が14.3%、SE A + SE C + TSST-1型が8.7%、no toxin型が28.5%であった²⁵⁾と述べている。本研究結果では、割合が若干異なるが、最も多いのがSE C + TSST-1型であり、SE A + SE C + TSST-1型、no toxin型、SE A型が組み合わせの型の上位を占めているのは同じであった。コアグラウゼ型と毒素産生性を組み合わせると、木村らの報告では、全体でコアグラウゼII型、エンテロトキシン(SE)C型、TSST-1産生のcoagulase II SE C + TSST-1型が34.1%、coagulase II no toxin型が15.5%、coagulase IV SE A型が10.3%、coagulase II SE A + SE C + TSST-1型が8.7%、coagulase III no toxin型が7.1%²⁵⁾となっており、今回の結果の方が、coagulase II SE C + TSST-1型、coagulase II SE A + SE C + TSST-1型の割合が多く、coagulase II no toxin型、coagulase IV SE A型、coagulase III no toxin型が少ない。

地方別にみると、木村らの報告²⁵⁾では、coagulase II SE C + TSST-1型は東北および中部で、78%、67%と高率、四国、九州沖縄、近畿では、0%、12%、19%と低率であった。また、coagulase II SE A + SE C + TSST-1型は北海道、北陸、四国を除く地方から、4~23%分離され、中国では23%と比較的高率であったが、近畿は8%と本研究ほど多くなかった。金山らの報告²⁴⁾では、coagulase II SE

C + TSST-1型は九州以外の各地で50%以上を占めているが、coagulase II SE A + SE C + TSST-1型は関東で4.2%みられたのみで他の地域ではみられていなかった。

Coagulase II SE A + SE C + TSST-1型の菌が、今回検討した1992~93年全国調査とほぼ同じ時期である1990年から1993年に広島大学の外科で大流行し、24例のMRSA腸炎のうち、23例(95.8%)がAC型であったと竹末らが報告している²⁶⁾。本研究には広島大学の菌株は入っていないが、中国地方では、coagulase II SE A + SE C + TSST-1型の菌の割合が15.7%と比較的高かった。各地から高頻度に検出されたPFGE No.1, 4, 19は、coagulase II SE A + SE C + TSST-1の株が多く、このような株が別の各地の施設でも流行していた可能性がある。

真下らは、東海地区で、1997、1998年には1996年に比べエンテロトキシンC型の株の比率がやや減少し、代わってAC型がわずかながら認められるようになったと報告している²⁷⁾が、これ以降、日本のMRSAのエンテロトキシン型についての報告はほとんどない。

また、本研究で扱った1992~93年全国調査の菌株においても、エンテロトキシンAC型の菌株はPCase非産生株が約9割を占めていたが、1998年度東海地区で分離されたエンテロトキシンAC型の菌株は29株すべてがPCase非産生株であったと真下らが述べている²⁷⁾。

パルスフィールド電気泳動(PFGE)型とコアグラウゼ型、エンテロトキシン型、TSST-1産生性、薬剤耐性は、PFGEが一致する場合、100%一致するわけではないが、概ね同じであった。穂積らはPFGE型が同一でも、薬剤感受性、エンテロトキシン型、TSST-1産生性が異なる場合があることを報告している⁷⁾。

同一PFGE型の菌の場合、コアグラウゼ型は、特定の1種類または型別不能で、異なるコアグラウゼ型が同一PFGE型の菌から検出されることはなかった。同一PFGE型の菌株の場合、コアグラウゼ型別不能

の株は、コアグラゼ産生能が低いなどの原因により型別困難であるが、型別された菌株とおそらく同じ型であると考えられ、PFGE型とコアグラゼ型の関係性は強いといえる。

薬剤耐性の場合、GMについては、今回の検討以外にも耐性菌と感受性菌でPFGE型が同じ場合がしばしばみられる。OFLX, CPの耐性・感受性、PCase産生・非産生においても、同様の場合があり、特に同一患者の同一部位から同時期に検出された菌株の場合にOFLX, CPの耐性菌と感受性菌、PCase産生菌と非産生菌のPFGE型が同一な場合がある²⁸⁾。これは、一部のGMやOFLXに対する耐性化が、PFGE型には反映されない染色体DNAの変異によるためと考えられる。また、CP耐性またはPCase産生遺伝子はプラスミド上に存在するが、プラスミドの有無はその大きさからして染色体DNAのPFGEに対しては影響が少ないためと考えられる。毒素産生遺伝子や薬剤耐性遺伝子の変異を考慮すると、毒素産生性や薬剤耐性が一部異なる菌株であってもPFGE型が同一の菌株については、同一または近似の株とみなすことが適当と考える。

PFGE型について、Tenoverらが、全く同一の場合は区別できない同一株 (Indistinguishable) , フラグメントが2~3ヶ所異なる菌株については遺伝的変異が1回で関係が深い株 (Closely related) , フラグメントが4~6ヶ所異なる菌株については遺伝的変異が2回で関係する可能性のある株 (Possibly related) , フラグメントが7ヶ所以上異なる菌株は別の菌株 (Different) という基準を出している²⁹⁾。本研究では、全く同一の場合 (Indistinguishable) を同一型としているが、Fig.1のPFGE No.1とNo.19, No.22はフラグメントが2ヶ所異なる近似株である。検出数が4株以下であるためFig.1にはないが、この他にも、2ヶ所異なる近似株は6種類9株存在し、4~6ヶ所異なる関係する可能性のある菌株は9種類17株存在した。また、Fig.1のPFGE No.3と、No.5, No.11, No.14, No.16は、フラグメントが2~3ヶ所異なる近似株であり、No.7はフラグメントが4ヶ

所異なる関係する可能性のある菌株である。この他にも、PFGE No.3と2~3ヶ所異なる近似株は5種類9株存在し、4~6ヶ所異なる関係する可能性のある菌株は9種類20株存在した。このようにそれぞれの型に、近似または関連する可能性のある型が多数あり、重複する関係もあり複雑に交錯している。

本研究で、日本全国の病院でMRSAが重大な問題となった1990年代はじめ全国の施設から分離された866株という多数のMRSAのPFGEを行ったことによって、施設や地域を越えて同一菌株が伝播した可能性が示唆された。黄色ブドウ球菌は、患者や医療従事者の鼻腔や皮膚にも保菌されやすく、乾燥にも強いことから、患者や医療従事者の移動に伴ってMRSAが、施設や地域を越えて伝播した可能性がある。MRSAが日本全国に広がった背景には、このような交差感染の可能性のあることを銘記し、交差感染を防ぐことが重要である。

謝辞

エンテロトキシン型、TSST-1産生性の検査に協力頂いた株式会社三菱化学ビーシーエル (現三菱化学メディエンス) 雑賀 威博士、小林寅詰博士 (現東邦大学医学部看護学科) , 解析・データ整理に協力・参加頂いた秋吉充子氏、守田敬子氏、松嶋千恵氏、大谷映子氏、出水文臣氏、出水美佐子氏、安部浩太郎氏、安部理恵氏、米田裕美子氏、山崎佳代氏、佐藤 茜氏に感謝致します。なお本研究は、財団法人宮崎県看護学術振興財団の助成により行われた。

文献

- 1) Bannerman T.L., Hancock G.A., Tenover F.C. and Miller J.M. : Pulsed-field gel electrophoresis as a replacement for bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*, J.Clin.Microbiol. 33 : 551~555, 1995
- 2) Nada T., Ichiyama S., Osada Y., Ohta M., Shimokata K., Kato N. and Nakashima N. : Comparison of DNA fingerprinting by PFGE and PCR-RFLP of the coagulase gene to distinguish MRSA isolates, J.Hosp.Infect. 32 : 305~317, 1996

- 3) 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. 29 : 2690~2695, 1991
- 4) 後神克徳, 安井晃栄, 河田隆子, 久保田澄子, 平井義一, 小熊恵二, 那須良次, 原田英雄:岡山大学医学部附属病院におけるMRSAの現状とその性状について, 岡山衛生検査32 : 17~21, 1995
- 5) Saito Y., Seki K., Ohara T., Shimauchi C., Honma Y., Hayasi M., Masuda S. and Nakano M. :Epidemiologic typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in neonate intensive care units using pulsed-field gel electrophoresis. Microbiology and Immunology 42 : 723-729, 1998
- 6) 澤井豊光, 王家耀, 朝野和典, 柳原克紀, 平冨洋一, 松田淳一, 餅田親子, 田代隆良, 上平憲, 河野茂 : MRSA複数菌株感染例検出における表現型タイピングの有用性の検討, 感染症学雑誌72 : 1035~1040, 1998
- 7) 穂積寿和子, 岸本裕充, 橋谷進, 和田恭直, 浦出雅裕 : パルスフィールド電気泳動法を用いた染色体DNAフィンガープリントによるMRSAの臨床疫学的検討, 日本口腔外科学会雑誌45 : 261~268, 1999
- 8) Yasunaka K. and Kono K. : Epidemiological study of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at Fukuoka University Hospital. Microb. Drug Resist. 5: 207~213, 1999
- 9) 藤原弘光, 寺本英巳, 吉岡明, 山本司生, 井川克利, 藤井義寛, 谷本綾子, 松本行雄, 下村登規夫, 清水英治, 猪川嗣朗 : 鳥取大学医学部附属病院より検出されたMRSA菌株のPFGE法による疫学的検討, 鳥取医学雑誌28 : 45~52, 2000
- 10) 大堀直美, 北目文郎 : 大学病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌による院内感染の細菌学的ならびに疫学的解析, 環境感染15 : 295~305, 2000
- 11) Fujino T., Mori N., Kawana A., Kawabata H., Kuratsuji T., Kudo K., Kobori O., Yazaki Y. and Kirikae T. : Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Tokyo Hospital in 2000, Japanese Journal of Infectious Diseases 54 : 91-93, 2001
- 12) 倉本あかね, 松村雅世, 高橋夕子, 中島英恵, 岡部忠志, 沖村幸枝, 山崎善隆, 加藤祐美子, 川上由行, 本田孝行 : 2診療科の共有病棟におけるMRSA感染のパルスフィールド電気泳動を用いた解析, 日本臨床微生物学雑誌12 : 123~127, 2002
- 13) Fujino T., Sekiguchi J., Kawana A., Konosaki H., Nishimura H., Saruta K., Kudo K., Kobori O., Yazaki Y., Kuratsuji T. and Kirikae T. : Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Tokyo Hospital in 2002, Japanese Journal of Infectious Diseases 55 : 210 ~213, 2002
- 14) Kawano F., Miyazaki H., Takami J., Fujino T., Saruta K. and Kirikae T. : Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Kumamoto Hospital in 2001, Japanese Journal of Infectious Diseases 55 : 29~30, 2002
- 15) 千田俊雄, 岡村登, 米山志津, 大澤佳代, 馬場千恵美, 沢辺悦子, 古畑紀子, 遠井初子, 武部功, 角田千能, 西堀眞弘, 奈良信雄, 三宅修司, 吉澤靖之 : 当院における2001年度分離されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の分子疫学的解析と薬剤感受性, 日本臨床微生物学雑誌13 : 8~14, 2003
- 16) 森脇孝博 : 整形外科病棟入院患者及び同医療従事者より分離されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* のゲノタイピング, 感染症学雑誌77 : 1058~1066, 2003
- 17) Kawano F., Miyazaki H., Takami J., Fujino T., Sekiguchi J., Saruta K., Kuratsuji T. and Kirikae T. : Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Kumamoto Hospital in 2002. Japanese Journal of Infectious Diseases 56 : 129~132, 2003
- 18) Osawa K., Baba C., Ishimoto T., Chida T., Okamura N., Miyake S. and Yoshizawa Y. : Significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) survey in a university teaching hospital, J-Infect-Chemother. 9 : 172-177.2003
- 19) 北元憲利, 加藤陽二, 甘庶志帆乃, 片井敦雄, 田中智之 : パルスフィールド核酸電気泳動法によるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の分子疫学調査, 感染症学雑誌79 : 129~137, 2005
- 20) 竹末芳生, 横山隆, 児玉節, 山東敬弘, 中光篤志, 村上義昭, 今村祐司, 宮本勝也, 沖田光昭, 津村裕昭, 平田敏明, 松浦雄一郎, 板羽秀之 : メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)におけるペニシリナーゼ産生性の検討—エンテロトキシン型別分類を用いて, 日本化学療法学会雑誌40 : 1005~1010, 1992
- 21) 井田孝志, 野々山勝人, 長曾部紀子, 島内千恵子, 井上松久, 岡本了一 : 近年分離されたMRSAに関する全国的疫学調査, The Japanese Journal of Antibiotics 47 : 585~594, 1994
- 22) 高橋綾子, 四方田幸恵, 小林功, 大久保豊司, 岡本了一, 井上松久 : ブドウ球菌における各 β -ラクタマーゼ測定法の比較検討, Chemotherapy40 : 592~597, 1992
- 23) 出口浩一, 横田のぞみ, 古口昌美, 中根豊, 鈴木由美子, 深山成美, 石原理加 : 新鮮分離メチシリン耐性黄色ブドウ球菌多数株の生物型と薬剤感受性, The Japanese Journal of Antibiotics44 : 1376~1385, 1991
- 24) 金山明子, 雑賀威, 長谷川美幸, 小林寅喆, 西田実 : 臨床分離Methicillin耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA)の分離地域による疫学的性状および薬剤耐性パターンの比較, 臨床と微生物23 : 481~486, 1996
- 25) 木村昭夫, 五十嵐英夫, 潮田弘, 奥住捷子, 小林寛伊, 大塚敏文 : 全国国立大学病院より分離された黄色ブドウ球菌のコアグラマーゼ型別及びエンテロトキシン並び

- にToxic Shock Syndrome Toxin 1産生性に関する疫学的研究, 感染症学雑誌66:1543~1549, 1992
- 26) 竹末芳生, 横山隆, 児玉節, 松浦雄一郎: 当科におけるMRSA病原性の変化, 日本外科感染症研究 9: 203~206, 1997
- 27) 真下啓二, 品川長夫, 山本俊信, 有我憲仁, 由良二郎, 鈴木一也, 斉藤高明, 谷口正哲, 加藤英夫, 岩井昭彦, 武田佳秀, 伊藤浩一, 真辺忠夫, 長谷川正光, 水野章, 三宅孝, 保里恵一, 石川周, 神谷保廣: 東海地区におけるMRSAの性状と薬剤感受性について—第3報—, 日本外科感染症研究11: 82~87, 1999
- 28) 島内千恵子, 稲木勝英, 野々山勝人, 井上松久: 耳鼻咽喉科病棟におけるMRSAの鼻腔内保菌状況の検討, 臨床と微生物22: 335~336, 1995
- 29) Tenover F.C., Arbeit R.D., Goering R.V., Mickelsen P.A., Murray B.E., Persing D.H. and Swaminathan B.: Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing, J.Clinic. Microbiol. 33: 2233~2239, 1995

Original Article

Molecular Epidemiological Study of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated in Hospitals across Japan

—A study investigating whether the same strains spread to different hospitals and different areas —

Chieko Shimauchi¹⁾, Mari Shigeta²⁾, Chihiro Mouri¹⁾, Erina Katsuno¹⁾
Makiko Kawaguchi^{2) 3)}, Takashi Ida⁴⁾, Nobuyoshi Tachibana¹⁾, Matsuhisa Inoue⁵⁾

【Abstract】

In the early part of the 1990s, hospitals across Japan faced an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection. However, it remained unclear whether the same strains spread to different hospitals in different areas, or whether different strains were responsible for each hospital outbreak. Accordingly, in the national MRSA survey conducted from 1992 to 1993, 872 strains were collected in 39 hospitals, and we performed retest for coagulase types and drug resistance, enterotoxin typing (A-D), test for toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) production and pulse field gel electrophoresis (PFGE) of chromosomal DNA digested with the restriction endonuclease *Sma* I, on 866 well-preserved strains.

When enterotoxin and TSST-1 production tests were combined with coagulase test, the coagulase II, enterotoxin (staphylococcal enterotoxin: SE) C, TSST-1-producing coagulase II SE C + TSST-1 types accounted for 42.9% of all the 866 strains. When we investigated the different areas, these

1) Miyazaki Prefectural Nursing University

2) Former Affiliation: Miyazaki Prefectural Nursing University

3) Section of Oncopathology and Regenerative Biology, Faculty of Medicine, University of Miyazaki

4) Pharmaceutical Research Department, Meiji Seika Kaisha, Ltd.

5) Kitasato University

types accounted for 59% of all strains east of the Chubu area, but only 6.9% of those in the Kinki area, and 21.4~42.0% of those in the Chugoku, Shikoku and Kyushu areas. Conversely, the coagulase II SE A + SE C + TSST-1 type was found in 34.7% of all strains in the Kinki area, 21.7% in the Kanto area, and 15.7% in the Chugoku area, but less than 9.0% in all other areas.

We also detected 343 PFGE types when we counted only those with indistinguishable patterns as one type. Of 114 types which were detected in multiple strains, 64 types were localized to only one hospital, while 50 were identified in multiple hospitals. One PFGE type was detected in 82 strains isolated from 14 hospitals located in 9 prefectures of the Kanto, Chubu, Kinki and Kyushu areas. Another PFGE type was detected in 59 strains isolated from 12 hospitals located in 6 prefectures of the Kanto, Chubu and Kyushu areas, and there was also another type detected in 28 strains isolated from 12 hospitals located in 7 prefectures of the Hokkaido, Kanto, Chubu and Chugoku areas. These indicated the possibility that the same strains spread to different hospitals and different areas. Moreover, there were 28 major PFGE types with a high detection frequency in more than 5 strains. The total number of strains corresponding to these 28 PFGE types was 413, which is 47.7% of all the 866 strains. Strains with the same PFGE type generally had the same coagulase, enterotoxin, TSST-1 production and drug resistance properties.

【Key words】 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), coagulase type, toxin production, pulsed field gel electrophoresis (PFGE) , drug resistance