

都内小児科定点病院において分離された黄色ブドウ球菌の型別成績 (1993~2004)

遠藤 美代子*, 奥野 ルミ*, 畠山 薫*,
向川 純*, 柳川 義勢*

Distribution of *Staphylococcus aureus* Isolated from Patients of pediatric sentinel Hospital in Tokyo, 1993-2004

Miyoko ENDOH*, Rumi OKUNO*, Kaoru HATAKEYAMA*, Jun MUKAIGAWA* and Yoshitoki YANAGAWA*

Keywords : 黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus*, メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 MRSA, コアグララーゼ型 staphylocoagulase typing, エンテロトキシン staphylococcal enterotoxin, トキシックショックシンドローム トキシン-1 TSST-1

はじめに

黄色ブドウ球菌は、皮膚感染症や食中毒などの原因菌として多く認められている。また、ヒトの皮膚、外鼻孔や中咽頭に常在することも知られており、健康者からも10~30%の割合で分離される。特に、院内感染の重要な原因菌であるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、近年、市中感染症患者¹⁾や健康学生の鼻腔²⁾から分離されるとの報告が散見されている。

我々は、1993年6月より、市中患者におけるMRSA保有状況を調査する目的で、都内小児科定点病院外来患者の咽頭ぬぐい液を中心に検査を実施し、分離された黄色ブドウ球菌のMRSA鑑別、コアグララーゼ型別、毒素産生性を試験してきたので、これまでの成績を集計して報告する。

材料及び方法

1. 材料

1993年6月から2004年12月までに都内のA, B, C, Dの4小児科定点病院から送付された咽頭ぬぐい液2,146検体について黄色ブドウ球菌の検査を実施した。検査材料とした咽頭ぬぐい液は1993年より1998年までは100検体以上であったが、1999年以降は激減し2003年は1検体のみであった。またE, Fの小児科定点病院において検査し、分離された菌株2,448株も調査対象とした。

2. 検査方法

咽頭ぬぐい液は卵黄加マンニット食塩培地 (栄研) に塗抹、培養して黄色ブドウ球菌を分離した。

MRSA鑑別試験はMRSA Screen Agar (BBL) に分離菌株を塗抹し、35°C24時間培養後発育したものをMRSAと判定した。コアグララーゼ型別は、ウサギ血漿加BHI broth (Difco) に分離菌株を接種し37°C24時間培養後3,000 rpmで10分間遠心し、上清についてコアグララーゼ型別用免疫血清 (デンカ生研) を用いて実施した。なお、コアグララーゼIX, X³⁾

については、自家免疫血清を用いて試験した。

ブドウ球菌毒素産生性試験はBHI brothに接種し、37°C、100rpm/分の条件で48時間振とう培養後12,000 rpmで遠心を行い、その上清について毒素産生性試験⁴⁾を実施した。

またMRSAとしてE, F病院から搬入された入院患者由来株を含む菌株についてはコアグララーゼ型別・毒素産生性試験を行った。

結果

1. 黄色ブドウ球菌の分離成績

1993~2004年に検査した咽頭ぬぐい液2,146検体から、分離された黄色ブドウ球菌は1,172株であった(表1)。その内のMRSAは465株であり、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) は707株であった。

病院で分離された菌株については合計2,448株のうち、MRSAは2,406株、MSSAは42株であった(表2)。

2. コアグララーゼ型別成績

期間中に分離されたMRSA及びMSSAのコアグララーゼ型別成績を表3及び表4に年次別に示した。

MRSA2,871株の主なコアグララーゼ型はII型で2,531株(88.2%)、次いでI型の179株(6.2%)、III型の88株(3.1%)であった。1993~2000年はII型がほぼ90%以上を占めていたが、2001年以降は毎年減少傾向がみられ2003年には71.6%となった。一方I型は2001年までは10%以下であったが、2002~2003年には15%以上と増加した。またIII型も2002年の4.8%から2003年8.3%、2004年には11.3%で増加傾向を示している。コアグララーゼX型は1997年以降分離されるようになり、これまでに4株分離されている。

MSSA749株の主なコアグララーゼ型は、VII型で162株(21.6%)、次いでV型122株(16.2%)で、MRSAで多く分離されたII型は117株(15.6%)であった。II型とV型は毎

* 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

年分離され、一番多く分離されたⅦ型を加えた3種の型で毎年全体のほぼ半数以上の分離率であった。コアグラゼⅨ型は5株、Ⅹ型は1994年に19株など計52株が分離さ

れた。MSSAの分離時期はMRSAより早く調査当初の1993年頃から分離されていた。

表1. 小児科定点病院患者由来咽頭ぬぐい液の検査件数（1993～2004年）

	調 査 年 次												合計
	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	
検体数	509	642	365	195	136	109	42	53	34	28	1	32	2146
黄色ブドウ球菌	278	394	214	100	61	50	16	23	19	4	0	13	1172
MRSA	110	194	86	31	13	11	7	6	3	0	0	4	465
MSSA	168	200	128	69	48	39	9	17	16	4	0	9	707

表2. 小児科定点病院患者由来黄色ブドウ球菌の年次別菌株数

	調 査 年 次												合計
	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	
MRSA	86	133	130	146	232	315	270	314	254	208	180	138	2406
MSSA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	24	15	42

表3. 分離されたMRSAのコアグラゼ型別成績

年次	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	UT	計
1993	5	183	3	1		1	2				1	196
1994	4	303	4	1	3		3	2			7	327
1995	7	203	2		1		2				1	216
1996	7	162	3	1	1		2				1	177
1997	22	208	7	1	2		3			1	1	245
1998	24	288	4	1	3		6					326
1999	10	254	11	1							1	277
2000	10	299	6	1			3			1		320
2001	21	227	7				2					257
2002	32	165	10				1					208
2003	28	129	15				2			2	4	180
2004	9	110	16	1			6					142
計	179	2531	88	8	10	1	32	2	0	4	16	2871

表4. 分離されたMSSAのコアグラゼ型別成績

年次	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	UT	計
1993	8	37	25	10	23	3	38	9		6	9	168
1994	16	30	37	14	20	6	48	6	1	19	3	200
1995	4	18	18	9	23	2	29	6	1	6	12	128
1996	3	12	2	17	9		11	8	3	4		69
1997	3	4	3	7	11	1	11	1		6	1	48
1998	3	5	2	6	13		4	1		4	1	39
1999		1		3	1		2			1	1	9
2000	1	3	3	1	4			2		3		17
2001		2	1	2	4		4			2	1	16
2002	1	1			5							7
2003	3	2	2	1	5	1	8			1	1	24
2004	1	2	2	1	4	1	7				6	24
計	43	117	95	71	122	14	162	33	5	52	35	749

3. 毒素産生性試験成績

MRSA2,871株, MSSA749株の毒素産生性を表5に示した。MRSAではトキシックショックシンドロームトキシン-1(TSST-1)産生株が2,347株(81.7%), エンテロトキシン(SE)C産生株が2,328株(81.1%), 次いでSEB産生株528

株(18.4%), 毒素非産生株395株(13.8%)であった。MSSAでは、毒素非産生株が471株(62.9%)と最も多く、次いでSEC産生株が108株(14.4%), TSST-1産生株が106株(14.2%), SEB94株(12.6%)の順であった。

表5. 分離された黄色ブドウ球菌の毒素産生性

	毒素型					
	A	B	C	D	TSST-1	—
MRSA	23	528	2328	21	2347	395
MSSA	51	94	108	19	106	471

表6. 分離されたMRSAのコアグララーゼ型と毒素産生性

毒素型	コアグララーゼ型										計
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	X	UT	
A		1	1	3			4				9
B	1	56	4				4				65
C	6	14					1				21
D		17	1								18
A+B				1			6				7
B+C		7					1				8
B+D		1									1
T	1	18	1	2							22
T+A		2								5	7
T+B		18	1								19
T+C	1	1848	5	1			2				1857
T+A+C		7	2								9
T+B+C	2	425								6	433
—	168	117	73	1	10	1	14	2	4	5	395
計	179	2531	88	8	10	1	32	2	4	16	2871

T:TSST-1

表7. 分離されたMSSAのコアグララーゼ型と毒素産生性

毒素型	コアグララーゼ型										計
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	
A	1	1	4	5			6				17
B		15	2	1	6	3	42	7			76
C	3	4	8	3	5		6	3		1	36
D		14	1			1					16
A+B			1		1		5				7
A+C							1				2
A+D											
B+C		5		1		1	7	2			16
B+D		2									2
T	1	1	1	18	3	2	3				30
T+A				21							21
T+C	2	7	9	6	4		10	1	1	2	42
T+A+C		2	1				1				4
T+B+C		5		2							8
T+B+D		1									1
—	36	60	68	14	103	7	81	20	4	49	471
計	43	117	95	71	122	14	162	33	5	52	749

T:TSST-1

4. コアグララーゼ型別毒素産生性

MRSA のコアグララーゼ型別の毒素産生性試験成績を表 6 に示した。コアグララーゼ I 型は 179 株中 168 株(93.8%)が毒素非産生の株であった。また、コアグララーゼ III 型の 88 株では、SEC+TSST-1 が 5 株 (5.7%) , SEB 産生株が 4 株(5.0%)認められたが、毒素非産生が 73 株 (82.0%) を占めた。さらに、コアグララーゼ IV 型では 8 株のうち SEA 産生株は 3 株、SEA+SEB が 1 株、コアグララーゼ VII 型は 33 株中 SEA 産生株が 4 株、SEB 産生が 4 株、SEA+SEB 産生が 6 株であったが、いずれも毒素非産生株が多数を占めていた。

一方、コアグララーゼ II 型では毒素産生株が 2,530 株中、2,414 株(95.4%)を占め、特に SEC +TSST-1 産生株が 1,848 株で、73.0% を占めた。次に多かったのは SEB+SEC+TSST-1 産生で 425 株 (16.8%) であった。また、毒素非産生株も 117 株認められている。

MSSA のコアグララーゼ型別の毒素産生性を表 7 に示した。MSSA の毒素産生株は、コアグララーゼ VII 型の SEB 産生株が 42 株、IV 型の SEA+TSST-1 が 21 株、IV 型の TSST-1 産生が 18 株、II 型 SEB 産生が 15 株、SED 産生が 14 株などであった。毒素非産生株はコアグララーゼ I 型で 36 株、II 型 60 株、III 型 68 株、V 型 103 株、VII 型 81 株、X 型 49 株など合計 471 株(62.9%)であった。

考 察

当初著者らは市中患者における MRSA の保有状況を調査する目的で、小児科外来患者の咽頭ぬぐい液について調査を開始した。しかしながら、種々の理由により咽頭ぬぐい液の検査件数は 1994 年の 642 件を最高に年々減少して、2003 年は 1 件となってしまった。検査した菌株も 1998 年頃までは外来患者由来株が多かったが、その後入院患者由来株で占められた(図 1)。菌株で搬入された MRSA 2,406 株のうち 1,814 株は入院患者由来株であった。

咽頭ぬぐい液の検体数が 100 件を超えていた調査初期の 6 年間には、MRSA が平均 22.8% 分離されていた(表 1)。そして、外来患者咽頭ぬぐい液から分離を行った A,B,C,D 病院由来の黄色ブドウ球菌 1,172 株の中で、1993 年~1995 年に MRSA が最も多く分離されたのは A 病院であった^{5, 6)}。1993 年から 1998 年までの A 病院のぬぐい液から分離された黄色ブドウ球菌を図 2 に示したが、期間中に分離された MRSA のほとんどが、この病院由来であることがわかる。また、MRSA を分離した外来患者の多くは、保菌した状態で退院し、再受診時に保菌状態が再確認されたと考えられる患者が多く認められていた。

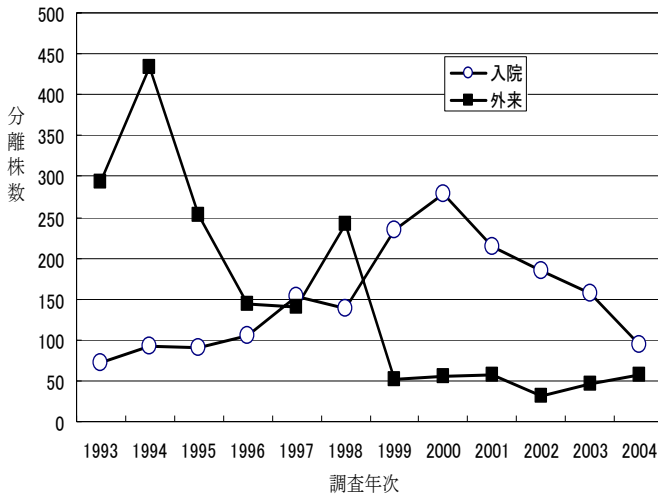


図 1. 入院患者・外来患者別の菌株数

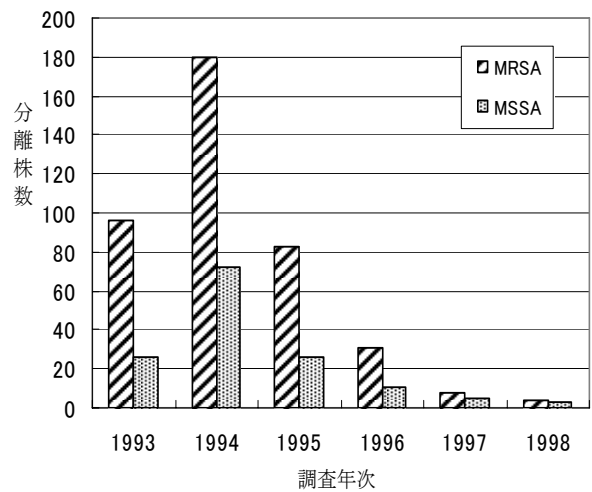


図 2. A 病院の外来患者由来 MRSA と MSSA 株数

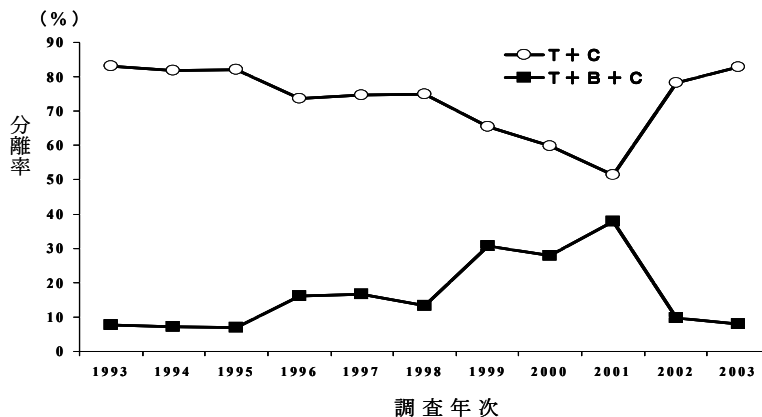


図 3. コアグララーゼ II 型の毒素産生株の年次別比較

したがって、今回の結果が市中患者におけるMRSAの保有率を示すものであるとは考えにくい。

一方、MRSAの分離は地域・病院，入院・外来，調査年次により異なり，さらには，分離されるコアグラエ型に差が認められることも，多数報告されている⁷⁻¹²⁾．今回調査したMRSAは，コアグラエⅡ型が88.8%でありⅢ型は2.7%であった．著者らが報告¹³⁾した東京と鹿児島島の2病院におけるMRSAの分離状況の比較では，東京の入院患者由来株では，コアグラエⅡ型が95%，外来患者由来株では76%であったが，同時期における鹿児島島の病院の入院患者由来MRSAではⅡ型は24%，Ⅲ型は60%で，Ⅲ型のMRSAが多いという地域差が認められている．東京においてはコアグラエⅡ型のMRSAが多いという傾向は変わっていないといえる．

MRSAのコアグラエ型と毒素産生性の関係を見るとコアグラエⅠ型は毒素非産生が約94%と多く，コアグラエⅡ型ではSEC+TSST-1産生株が73%であり，SEB+SEC+TSST-1産生が16.8%，SEB産生が2.2%であった．沖井らの報告¹⁴⁾では1991～1993年にはコアグラエⅡ型のSEA+SEC産生株が83.9%であったが，1998～2000年にはSEA+SEC産生株は1株の1.1%と激減した．またそれらの株はほとんどがTSST-1を産生していたと報告している．今回調査した株の中でSEA+SEC+TSST-1を産生していた株は7株のみで，1993年に3株，1995年に2株，1996，1997年に各1株であった．コアグラエⅡ型のSEC+TSST-1産生株は1993年には83%であったが，1996年頃より減少し2001年には51%の分離率となった．しかし2002年からは増加し2003年，2004年には82%と以前と同じ状態に戻っている．SEB+SEC+TSST-1産生株は1993～1995年に約7%であったが，SEC+TSST-1産生株の減少と反するように年々増加し，1999～2001年には約30%の株がSEB+SEC+TSST-1産生株で占められた(図3)．2002年以降は10%以下に減少している．

今回の調査期間中には，黄色ブドウ球菌感染による重篤

な患者報告はなく，入院患者も保菌状態が多いと考えられる．しかし，入院患者については免疫力の低下などにより重症化する可能性もあり，菌型の動向について今後も監視する必要がある．

文 献

- 1) T.Baba, F.Takeuchi, K.Hiramatsu, *et al.*: *THE LANCET*, **359**, 1819-1827, 2002.
- 2) 石原ともえ, 高橋智恵子, 岡本正孝, 他: *環境感染*, **16**, 125-130, 2001.
- 3) 奥野ルミ, 遠藤美代子, 榎田隆一, 他: *臨床と微生物*, **24**, 221, 1997.
- 4) 新垣正夫, 五十嵐英夫, 藤川 浩, 他: *東京衛研年報*, **33**, 129-134, 1982.
- 5) 遠藤美代子, 奥野ルミ, 榎田隆一, 他: *感染症学雑誌*, **72**, 118, 1998.
- 6) 奥野ルミ, 遠藤美代子, 柏木義勝, 他: *感染症学雑誌*, **69**, 69, 1995.
- 7) 五十嵐英夫, 潮田弘, 藤川浩: *臨床と微生物*, **19**, 125, 1992.
- 8) 石川清仁, 鈴木恵三, 堀場優樹, 他: *感染症学雑誌*, **69**, 1-6, 1995.
- 9) 大塚喜人, 遠藤美代子, 奥野ルミ, 他: *臨床と微生物*, **22**, 335, 1995.
- 10) 沖井一哉, 武末芳生, 檜山英三, 他: *感染症学会誌*, **79**, 138, 2005.
- 11) 中原伸, 川山智隆, 横山俊伸, 他: *感染症学雑誌*, **68**, 339-345, 1994.
- 12) 島内千恵子, 毛利千祥, 橘宣祥, 他, *感染症学雑誌*, **75**, 119, 2001.
- 13) 遠藤美代子, 奥野ルミ, 下島優香子, 他: *ブドウ球菌研究会*, **44**, 11, 1999.
- 14) 沖井一哉, 横山隆, 竹末芳生, 他: *感染症学雑誌*, **76**, 219, 1999.