

## 小児病院における polymerase chain reaction based open reading frame typing (POT) 法によるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の水平伝播の推定

稲岡千佳子<sup>1,5)</sup>・白尾 邦子<sup>1,5)</sup>・藤原 太<sup>1,5)</sup>  
木下 真柄<sup>2,5)</sup>・篠智 武志<sup>3,5)</sup>・望月 成隆<sup>4,5)</sup>

### *Horizontal Transmission Estimation of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus Using Polymerase Chain Reaction-based Open Reading Frame Typing at a Children's Hospital*

Chikako INAOKA<sup>1,5)</sup>, Kuniko SHIRAO<sup>1,5)</sup>, Futoshi FUJIWARA<sup>1,5)</sup>,  
Makie KINOSHITA<sup>2,5)</sup>, Takeshi HATACHI<sup>3,5)</sup> and Narutaka MOCHIZUKI<sup>4,5)</sup>

<sup>1)</sup>Clinical Laboratory Center, Osaka Women's and Children's Hospital, <sup>2)</sup>Infection Control Office, Osaka Women's and Children's Hospital, <sup>3)</sup>Department of Intensive Care Medicine, Osaka Women's and Children's Hospital, <sup>4)</sup>Department of Neonatal Medicine, Osaka Women's and Children's Hospital, <sup>5)</sup>Infection Control Team, Osaka Women's and Children's Hospital

(2017年12月9日受付・2018年7月11日受理)

#### 要 旨

新生児及び小児病棟における、定期的な鼻腔の監視培養で検出されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) について、Polymerase chain reaction based open reading frame typing (POT) 法を利用し水平伝播の推定が可能であった事例を報告する。【方法】大阪母子医療センターで2015年7月から2016年7月までに検出されたMRSAについて、POT法及び抗菌薬耐性パターンにより、水平伝播を推定した。【結果】入院患者由来MRSAの内、「院内新規」の81名について、同時期に同一病棟に入院歴のあった「水平伝播事例」は33名 (POT型7種類) であった。新生児病棟では、MRSA検出患者42名中、水平伝播事例発生回数3回 (22名)、小児循環器科病棟ではMRSA検出患者42名中、水平伝播事例発生回数4回 (11名) であった。POT型が同じ株間での抗菌薬耐性パターンは、水平伝播事例では全株一致した。2016年6月に実施された病棟職員の鼻腔培養で得られたMRSAは、患者由来のMRSAのPOT型と一致しなかった。【結論】POT法を利用することにより、同一病棟での同時期の複数の水平伝播を推定することができ、MRSAの病棟内水平伝播の把握に役立つと考えられた。

Key words : MRSA, POT法, 監視培養, 水平伝播, 職員鼻腔保菌検査

#### 序 文

周産期・小児医療専門病院は、低出生体重児や先天性心疾患などを有する新生児・乳児が多く入院しており、これらの患者間の病棟内でのメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (以下MRSA) の水平伝播事例の発生は、MRSA

による感染リスクを高め予後に影響を及ぼすため、その予防は重要である<sup>1,2)</sup>。MRSAの水平伝播防止対策には、入院患者の鼻腔等の定期的な監視培養による保菌状態の把握と、菌の伝播経路の追跡が不可欠であり、そのためには検出されたMRSAの株の違いを十分に識別できる方法が必要となる。従来、当センターでは、コアグラマーゼ型別と抗菌薬耐性パターンの比較及びenterotoxin (ET)・exfoliative-toxin (EXT)・toxic-shock-syndrome-toxin (TSST)の3種の毒素産生能検索等の方法で株間の異同の識別を推定していたが、2015年6月からコアグラマーゼ型別に代えてpolymerase chain reaction based

<sup>1)</sup>独立行政法人大阪府立病院機構大阪母子医療センター臨床検査部門, <sup>2)</sup>独立行政法人大阪府立病院機構大阪母子医療センター感染管理室, <sup>3)</sup>独立行政法人大阪府立病院機構大阪母子医療センター集中治療科, <sup>4)</sup>独立行政法人大阪府立病院機構大阪母子医療センター新生児科, <sup>5)</sup>独立行政法人大阪府立病院機構大阪母子医療センターICT

表 1 MRSA の分類

| 過去  |     | 今回         |            | 判定   |
|-----|-----|------------|------------|------|
| 検査歴 | 検出歴 | 検出時期       | 検出部位       |      |
| 有   | 有   | 不問         | 不問         | 輸入   |
|     | 無   | 入院 48 時間以内 | 不問         | 輸入   |
|     |     | 入院 48 時間以降 | 不問         | 院内新規 |
|     |     | 入院 48 時間以内 | 不問         | 輸入   |
| 無   | 無   | 入院 48 時間以降 | 無菌領域       | 院内新規 |
|     |     |            | 入院後挿入カテーテル |      |
|     |     |            | 入院後形成の創部   | 不明   |
|     |     |            | 無菌領域以外     |      |
|     |     |            | カテーテル由来以外  |      |

順天堂大学 COE 感染制御科学版 MRSA 対応マニュアルより引用改変

open reading frame typing (以下 POT) 法を導入した。今回、小児病院での新生児・小児患者の MRSA の院内感染防止対策における、病棟内水平伝播状況及び伝播の検索に加え、培養検査に同意を得られた職員の MRSA 鼻腔保菌株との関連について、POT 法及び抗菌薬耐性パターンを用いた検討によって、伝播を推定できた事例を報告する。

**対象と方法**

**対象：**

患者由来株：2015 年 7 月から 2016 年 7 月までの 13 か月間に、当センター入院及び外来検体より分離された MRSA (総株数 185 株)

職員由来株：2016 年 1~6 月の新生児棟での MRSA 水平伝播事例発生時に、同意を得られた新生児棟全職員 113 名の鼻腔保菌検査で得られた MRSA (総株数 4 株)

**方法：**

患者検体採取方法：通常の一般細菌培養検査に加え、新生児棟、及び小児循環器棟の入院患者は週 1 回の鼻腔の監視培養検査を実施した (監視培養実施病棟の患者が ICU 入室時は、ICU にて検体採取した)。

水平伝播の推定：外来検出事例を除いた入院患者由来 MRSA 検出事例を、順天堂大学 COE 感染制御科学版 MRSA 対応マニュアル<sup>3)</sup> の《MRSA 分類》(表 1) を参考に、「輸入」「施設内新規」「不明」に分類し、「施設内新規」の内、同一 POT 型株が複数検出された事例について、同じ病棟に同時に入院履歴があるなど、患者間に接触機会を認めたものを水平伝播事例とした。

職員鼻腔保菌検査：2016 年 6 月の新生児棟での MRSA 水平伝播事例発生時に、院内感染防止対策委員会の承認を得て、同意の得られた職員 113 名の鼻腔スワブを採取し、培養検査を実施した。

POT 法：シカジーニアズ POT キットブドウ球菌用

及びシカジーニアズ DNA 抽出キットを使用した<sup>4,5)</sup>。

抗菌薬感受性試験：栄研 DPS-192i システムの EP02 プレートを使用し、判定は CLSI M100-S22<sup>6)</sup> に準拠した。

毒素産生能：デンカ生研キット SET-RPLA・EXT-RPLA・TST-RPLA を使用した。

**結 果**

**MRSA 検出患者の背景**

検出された MRSA の由来患者数は 170 名 (分離総菌株数 185 株)、入院病棟の内訳は、新生児棟 42 名、小児循環器棟 42 名、(以上は週 1 回の MRSA 鼻腔監視培養実施病棟)、その他の病棟 58 名、外来患者 28 名であった。患者年齢の内訳は 0 歳児 116 名、1 歳児 12 名、2~5 歳児 19 名、6~15 歳児 11 名、16 歳以上 12 名であった。

**検出された MRSA の POT 型**

検出された MRSA の POT 法型別結果は、検出 POT 型 103 種類、その内 1 株のみ検出の POT 型は 82 種類 82 株で、同一 POT 型の株が複数検出されたのは 21 種類 103 株であった (表 2)。POT 型 106-9-80 と 106-137-80 の 2 種類で 43 株 (23%) を占めた。

**MRSA の水平伝播状況**

MRSA 検出患者 170 名から外来患者 28 名を除いた 142 名の内訳は、院内新規 81 名、輸入 56 名、不明 5 名であった。院内新規事例の内、同一 POT 型株の検出が見られた 66 名 (POT 型 14 種類) 中、同時期に同一病棟に入院などの接触機会の認められた水平伝播事例は 33 名 (POT 型 7 種類) であった。

**監視培養実施病棟での水平伝播状況と POT 型**

・新生児病棟

MRSA が検出された 42 名中、水平伝播事例の発生は 3 回、2015 年 4~6 月の POT 型 106-29-38 が 4 名、2015 年 6~8 月の POT 型 106-0-81 が 5 名、2016 年 1~6 月の

POT 型 106-9-80 が 13 名の計 22 名であった。残りの 20 名の内 17 名は、当該患者以外に同一 POT 型の検出を認めず、3 名は入院時期が離れている、又は他病棟からの保菌患者の転棟事例で、水平伝播以外と推定された(図 1)。

・小児循環器病棟

MRSA の検出された 42 名中、水平伝播事例の発生は 4 回、2015 年 5~6 月の POT 型 106-105-88 が 3 名、2015

年 7 月の POT 型 93-154-106 が 2 名、2015 年 7~8 月の POT 型 106-129-0 が 2 名、2015 年 8~9 月の POT 型 106-41-88 が 4 名の計 11 名で、残りの 31 名の内、18 名は当該患者以外に同一 POT 型の検出を認めず、13 名は入院時期が重なっていないため、水平伝播以外と推定された(図 2)。

職員鼻腔 MRSA 保菌検査結果と POT 型

新生児棟職員 113 名の鼻腔培養検査から検出された MRSA は 4 株で、POT 型は 4 株とも、2016 年 1~6 月の新生児棟の水平伝播事例から検出された株の 106-9-80 とは一致しなかっただけでなく、今回集計した 185 株のどの POT 型とも一致しなかった。

抗菌薬耐性パターンと毒素産生性

同一 POT 型が検出された株間での抗菌薬耐性パターンを比較すると、水平伝播事例では抗菌薬耐性パターンは全例一致した (POT 型 7 種類 33 株)。一方、水平伝播以外の事例での抗菌薬耐性パターンの一致状況は、同一 POT 型間で全て不一致 (POT 型 4 種類 8 株)、同一 POT 型間で全て一致 (POT 型 5 種類 11 株)、同一 POT 型間で一致・不一致の混在 (POT 型 5 種類 42 株)であった(表 3, 4)。ET, EXT, TSST の 3 種類の毒素産生性の一致率は、水平伝播事例 (87.5%) と水平伝播以外の事例 (86.5%) では差は認められなかった。

病棟での水平伝播の推定

POT 法導入以前より週 1 回の監視培養を実施していた新生児病棟での 3 回の水平伝播事例について、患者別に MRSA の検出状況を時系列に示し、水平伝播順を推定した(図 3, 図 4)。2015 年 4~6 月の POT 型 106-29-38 の事例では、患者番号 86-87-88-89 の順に水平伝播したと推定された。2015 年 6~8 月の POT 型 106-0-81 の事例では、患者番号 36-38-37-39-40 の順に水平伝播したと推定された。2016 年 1~6 月の POT 型 106-9-80 の事

表 2 POT 型別検出株数

| No.        | POT 型       | 株数  |
|------------|-------------|-----|
| 1          | 106-009-080 | 22  |
| 2          | 106-137-080 | 21  |
| 3          | 106-009-002 | 6   |
| 4          | 106-105-088 | 6   |
| 5          | 106-000-081 | 5   |
| 6          | 106-041-088 | 5   |
| 7          | 106-137-002 | 5   |
| 8          | 106-029-038 | 4   |
| 9          | 108-186-002 | 4   |
| 10         | 106-129-000 | 3   |
| 11         | 106-167-101 | 2   |
| 12         | 093-154-010 | 2   |
| 13         | 093-154-106 | 2   |
| 14         | 093-191-119 | 2   |
| 15         | 106-011-064 | 2   |
| 16         | 106-011-080 | 2   |
| 17         | 106-041-010 | 2   |
| 18         | 106-137-030 | 2   |
| 19         | 106-137-066 | 2   |
| 20         | 106-137-081 | 2   |
| 21         | 106-146-080 | 2   |
| 複数株検出型の計   |             | 103 |
| 1 株のみ検出型の計 |             | 82  |
| 総計         |             | 185 |

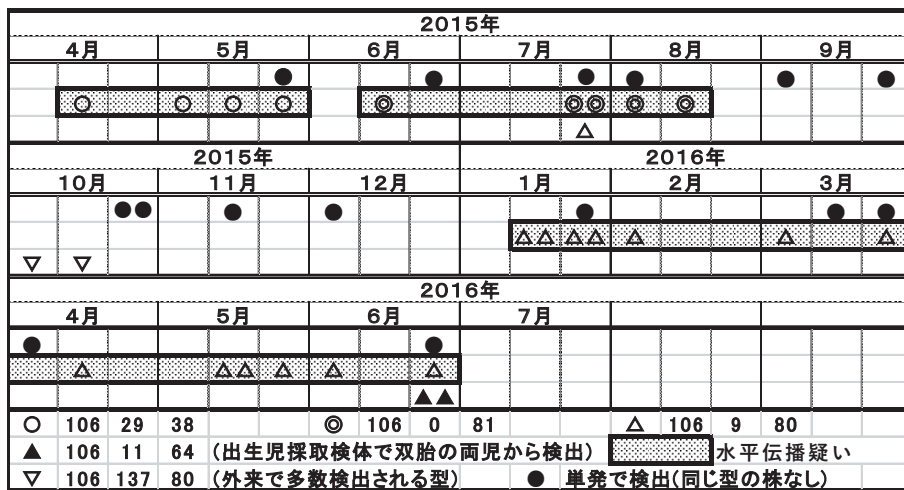


図 1 新生児病棟で分離された MRSA の POT 型

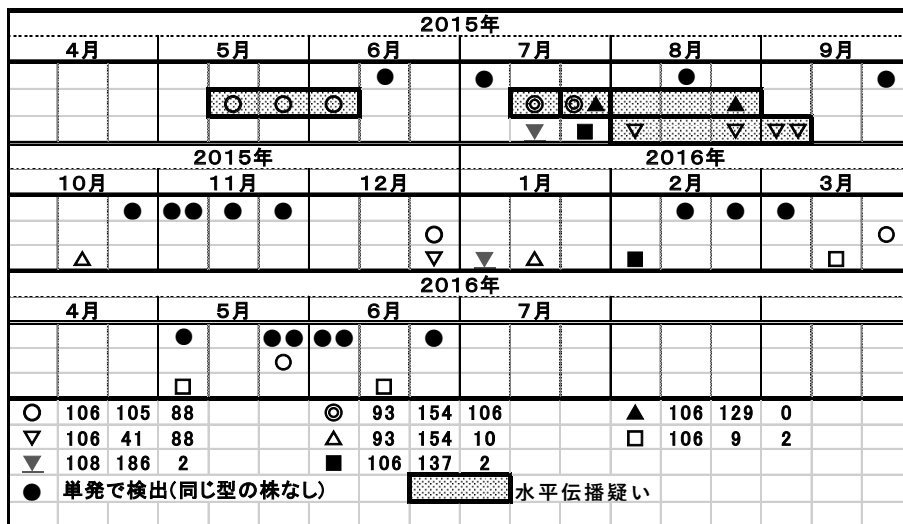


図2 小児循環器病棟で分離されたMRSAのPOT型

例は、患者番号54-55-56-57-58の順に水平伝播した後、保菌状態となった患者番号56, 57のいずれかから61-62-63へ水平伝播し、さらに保菌状態の患者番号56, 57, 63いずれかから患者番号64-65-66-68-69へと水平伝播したと推定された。

小児循環器病棟については、水平伝播事例発生当時、定期的な監視培養は未実施であったため、有症状時に培養検査で検出された順が必ずしも保菌患者から他の患者への伝播順を反映しているとは言えず、水平伝播発生は把握できたものの水平伝播順の推定には至らなかった。

考 察

小児病院におけるMRSAの院内感染対策を目的として、POT法を用いてMRSAの病棟内水平伝播経路の推定を行った。POT法を用いることにより、MRSAの病棟内水平伝播をより詳細に識別できた。

・MRSA 検出患者の背景とPOT型

MRSAのPOT法による水平伝播の把握については、近年成人領域について報告がなされているが<sup>1,7,8)</sup>、小児科・新生児科領域の報告は、小児のMRSA感染症例での報告<sup>9)</sup>や新生児病棟でのアウトブレイク時の報告<sup>2)</sup>など少数である。当センターでは、アウトブレイク時のみならず、平常時においても週一回の定期的な鼻腔監視培養を実施し、新規検出されたMRSAは全株POT型を検査している。これにより、アウトブレイク時以外の期間においても、MRSAの病棟内伝播状況を詳細に追跡できた。

検出されたPOT型は既報<sup>8)</sup>と同じく、106-137-80と106-9-80の株が多くみられた。一方、他施設で検出頻度の高いPOT1値が93の株(30~47%)<sup>7,8)</sup>は、当センターでの検出頻度は9.2%であり、小児患者に多いとされる

POT1値が73の株は<sup>10)</sup>、他施設の新生児棟のアウトブレイク時では高頻度(43.6%)に検出されたが<sup>2)</sup>、当センターでは検出されなかった。頻度の高い型が検出された場合、同一POT型でも異なる株である可能性があり、水平伝播の推定には注意を要するため、各施設毎のPOT型の検出頻度の把握が必要であると考えられた。

・新生児病棟の水平伝播状況とPOT型

新生児病棟でのMRSA水平伝播状況は、42名からMRSAが検出され、水平伝播事例の発生は3回あった。そのうち2015年の2回のPOT型(106-29-38と106-0-81)は、患者の入院時期が重なっており、従来の培養結果のみからの推定では、同一の株による水平伝播と誤認識される可能性があった。今回の事例では抗菌薬耐性パターンの比較により同一株ではないと推定できるものの、POT型を検査することにより、より明確に患者間の伝播が分離推定できた。POT型106-9-80の株は、2016年1月に、入院時検査でMRSA陽性の他施設からの転院患者を発端として、6月までに計13名から検出されたが、同時期に新生児棟でMRSAの検出された他の7名はPOT型が一致せず、水平伝播事例から区別することが可能であった。

・小児循環器病棟の水平伝播状況とPOT型

小児循環器科病棟では、2015年5~9月に同一POT型の複数患者からの検出が、同一病棟内で同時期に4種類のPOT型で認められ、病棟内での患者間の接触状況とも一致し、培養検査だけでは区別できなかった個別の水平伝播事例を区別認識することができた。どちらの病棟でも、定期的な監視培養での経時的MRSA検出状況とPOT型より、水平伝播事例の発生と収束の時期と伝播を明確に把握することができ、水平伝播以外の事例を除外することが可能となった。



表3 水平伝播症例の POT 値と抗菌薬耐性パターン

| 患者番号 | POT 1 | POT 2 | POT 3 | AMK | GM | ABK | EM | CAM | AZM | CLDM | MINO | VCM | TEIC | DAP | LZD | LVFX | CPFX | GRFX | FOM | ST | 水平伝播事例 |   |
|------|-------|-------|-------|-----|----|-----|----|-----|-----|------|------|-----|------|-----|-----|------|------|------|-----|----|--------|---|
| 14   | 93    | 154   | 106   | S   | S  | S   | R  | R   | R   | R    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | R   | S  | 1      |   |
| 15   | 93    | 154   | 106   | S   | S  | S   | R  | R   | R   | R    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | R   | S  |        |   |
| 36   | 106   | 0     | 81    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  | 2      |   |
| 37   | 106   | 0     | 81    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |        |   |
| 38   | 106   | 0     | 81    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |        |   |
| 39   | 106   | 0     | 81    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |        |   |
| 40   | 106   | 0     | 81    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |        |   |
| 54   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  | 3      |   |
| 55   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 56   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 57   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 58   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 61   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 62   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 63   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 64   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 65   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 66   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 68   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 69   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 86   | 106   | 29    | 38    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        | 4 |
| 87   | 106   | 29    | 38    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 88   | 106   | 29    | 38    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 89   | 106   | 29    | 38    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 92   | 106   | 41    | 88    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  | 5      |   |
| 93   | 106   | 41    | 88    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 94   | 106   | 41    | 88    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 95   | 106   | 41    | 88    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 106  | 106   | 105   | 88    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  | 6      |   |
| 107  | 106   | 105   | 88    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 108  | 106   | 105   | 88    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |        |   |
| 114  | 106   | 129   | 0     | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  | 7      |   |
| 115  | 106   | 129   | 0     | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |        |   |

・職員鼻腔 MRSA 保菌検査結果と POT 型

2016年1~6月の新生児棟での事例は、MRSAの分離株数では当該期間以外と比べて2SD以上の増加は認められなかったが、1. 病棟内全分離株中106-9-80の株が、1月：5株中4株、2月：1株中1株、3月：4株中2株、4月：2株中1株、5月：3株中3株、6月：5株中2株と連続して分離され、2. この間分離された106-9-80の株は、感受性試験における抗菌薬耐性パターン及

びET・EXT・TSTの3種の毒素産生パターンが全株一致し、3. 当該株と同じPOT値と抗菌薬耐性パターンを示す株は、新生児棟では、2015年7月に1株分離されたのみで、この患者さんは2015年9月に退院され、4. 2015年8月中旬以降、当該病棟内で同一POT値のMRSAが連続して分離された事例はなかった、などの状況より、同一株による水平伝播事例と推定し、対策を実施した。

表 4-1 水平伝播以外の症例の POT 値と抗菌薬耐性パターン\*1

| 患者番号 | POT 1 | POT 2 | POT 3 | AMK | GM | ABK | EM | CAM | AZM | GLDM | MINO | VCM | TEIC | DAP | LZD | LVFX | CPFX | GRFX | FOM | ST |
|------|-------|-------|-------|-----|----|-----|----|-----|-----|------|------|-----|------|-----|-----|------|------|------|-----|----|
| 11   | 93    | 154   | 10    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | R    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | R   | S  |
| 12   | 93    | 154   | 10    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 22   | 93    | 191   | 119   | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | R    | R   | S  |
| 23   | 93    | 191   | 119   | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | R    | S   | S  |
| 41   | 106   | 9     | 2     | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 42   | 106   | 9     | 2     | S   | R  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 43   | 106   | 9     | 2     | S   | S  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 44   | 106   | 9     | 2     | S   | R  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 45   | 106   | 9     | 2     | S   | S  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 46   | 106   | 9     | 2     | S   | S  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 48   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 49   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 50   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 51   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 52   | 106   | 9     | 80    | S   | S  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 53   | 106   | 9     | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 73   | 106   | 11    | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 74   | 106   | 11    | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 90   | 106   | 41    | 10    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 91   | 106   | 41    | 10    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 109  | 106   | 105   | 88    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 110  | 106   | 105   | 88    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 111  | 106   | 105   | 88    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 117  | 106   | 137   | 2     | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 118  | 106   | 137   | 2     | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 119  | 106   | 137   | 2     | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 120  | 106   | 137   | 2     | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | R  |
| 121  | 106   | 137   | 2     | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 137  | 106   | 137   | 30    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 138  | 106   | 137   | 30    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 125  | 106   | 137   | 66    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 126  | 106   | 137   | 66    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |

同一POT値間では、検出日順に表示

対策の一環として、院内感染対策防止委員会の承認を得て、同意の得られた職員 113 名の鼻腔培養検査が実施されたが、得られた 4 株の MRSA は全て、水平伝播事例として問題となった株のみならず今回集計した 185 株とも POT 型が一致せず、MRSA 検出職員についても特に除菌等を施行することなく水平伝播事例は 2016 年 6 月末で収束した。新生児病棟での MRSA の水平伝播<sup>1-3,11)</sup>については、保菌患者から職員の手指を介した伝播や、

病棟環境中の汚染箇所からの伝播、鼻腔保菌職員からの伝播などが想定されていたが、今回の新生児棟の職員の培養検査の結果からは、3 回の水平伝播事例のみならず、伝播経路不明の 20 名の患者も含め、鼻腔保菌職員からの伝播は確認できなかった。また、現行の年 1 回の定期的な環境培養検査では MRSA は検出されていないことから、従来から想定されている経路に加え、母体や他の家族などを含めた外部からの別の伝播経路の可能性も

表 4-2 水平伝播以外の症例の POT 値と抗菌薬耐性パターン\*1

| No. | POT 1 | POT 2 | POT 3 | AMK | GM | ABK | EM | CAM | AZM | GLDM | MINO | VCM | TEIC | DAP | LZD | LVFX | CPFX | GRFX | FOM | ST |
|-----|-------|-------|-------|-----|----|-----|----|-----|-----|------|------|-----|------|-----|-----|------|------|------|-----|----|
| 127 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 128 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 129 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 130 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | R   | S  |
| 131 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 132 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 133 | 106   | 137   | 80    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 134 | 106   | 137   | 80    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 135 | 106   | 137   | 80    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 136 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 137 | 106   | 137   | 80    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | R    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 138 | 106   | 137   | 80    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | R    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 139 | 106   | 137   | 80    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | R    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 140 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | R    | S   | S  |
| 141 | 106   | 137   | 80    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | R    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 142 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | R    | S   | S  |
| 143 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 144 | 106   | 137   | 80    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | R    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 145 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 146 | 106   | 137   | 80    | S   | S  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 147 | 106   | 137   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | S    | R    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 154 | 106   | 146   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 155 | 106   | 146   | 80    | S   | R  | S   | R  | R   | R   | R    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 159 | 106   | 167   | 101   | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 160 | 106   | 167   | 101   | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 178 | 108   | 186   | 2     | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 179 | 108   | 186   | 2     | S   | R  | S   | S  | S   | S   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | R    | R    | S    | S   | S  |
| 180 | 108   | 186   | 2     | S   | R  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |
| 181 | 108   | 186   | 2     | S   | S  | S   | R  | R   | R   | S    | S    | S   | S    | S   | S   | S    | S    | S    | S   | S  |

同一POT値間では、検出日順に表示

考慮する必要があると思われた。

・POT 法を利用した水平伝播推定における抗菌薬耐性パターンと毒素産生性

今回検出された POT 型 103 種類の内、106-137-80 や 106-9-80 など特に検出頻度の高い型は、外来や幾つかの病棟に亘って患者間の接触のない事例でも検出されている (106-137-80 の株が 6 病棟と外来、106-9-80 の株が 4 病棟と外来)。このため、これら検出頻度の高い型が検出された場合、水平伝播の推定に抗菌薬耐性パターンや毒素産生性との組み合わせが利用できるかを検討した。抗菌薬耐性パターンは、同一 POT 型株間では、水平伝

播事例の MRSA33 株は全て一致した (表 3)。一方、水平伝播以外の事例では一致・不一致が混在し、検出頻度の高い型では同一 POT 型間で複数の耐性パターンが認められた (表 4)。同一 POT 型株の同一病棟内での検出時は、抗菌薬耐性パターンの照合を併用することにより、一致すれば水平伝播の可能性を補強するものとなり、不一致であれば、水平伝播を否定する根拠の一つになると考えられた。また、ET・EXT・TSST の 3 種の毒素産生性と POT 型の間には関連が認められなかった。

・水平伝播の推定における監視培養の必要性

同時期に同一病棟内で POT 型及び抗菌薬耐性パター

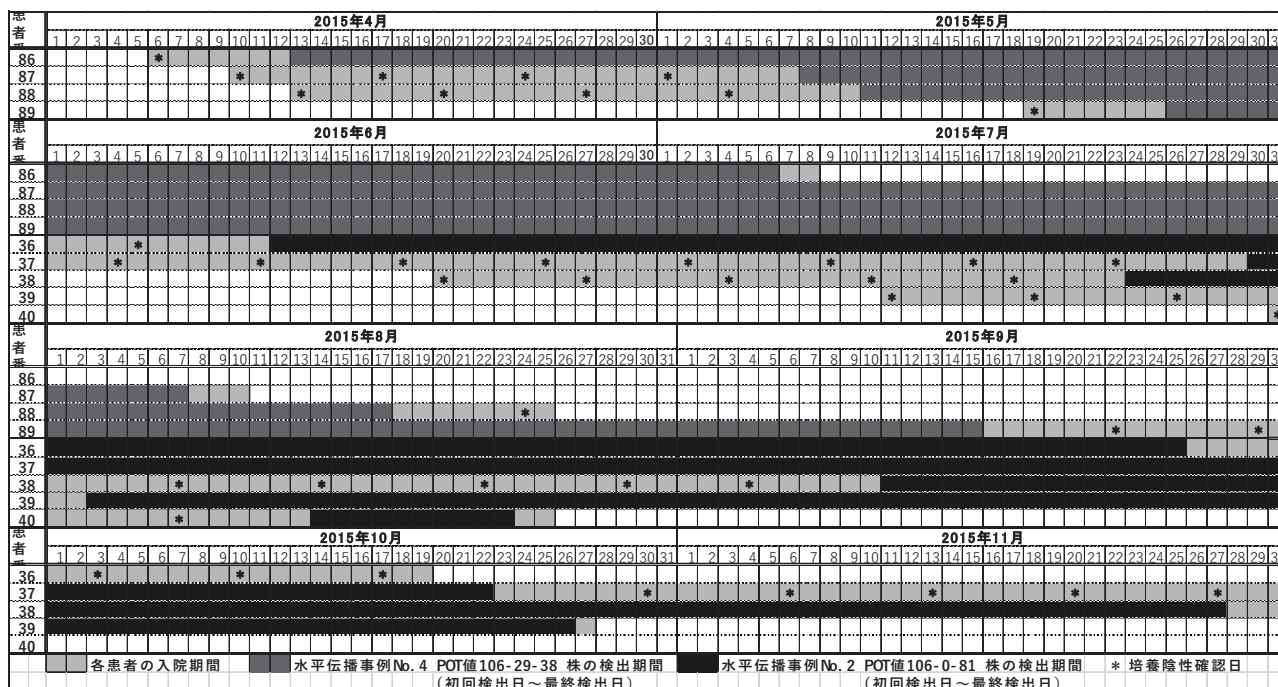


図3 新生児病棟の水平伝播事例の菌検出状況 1

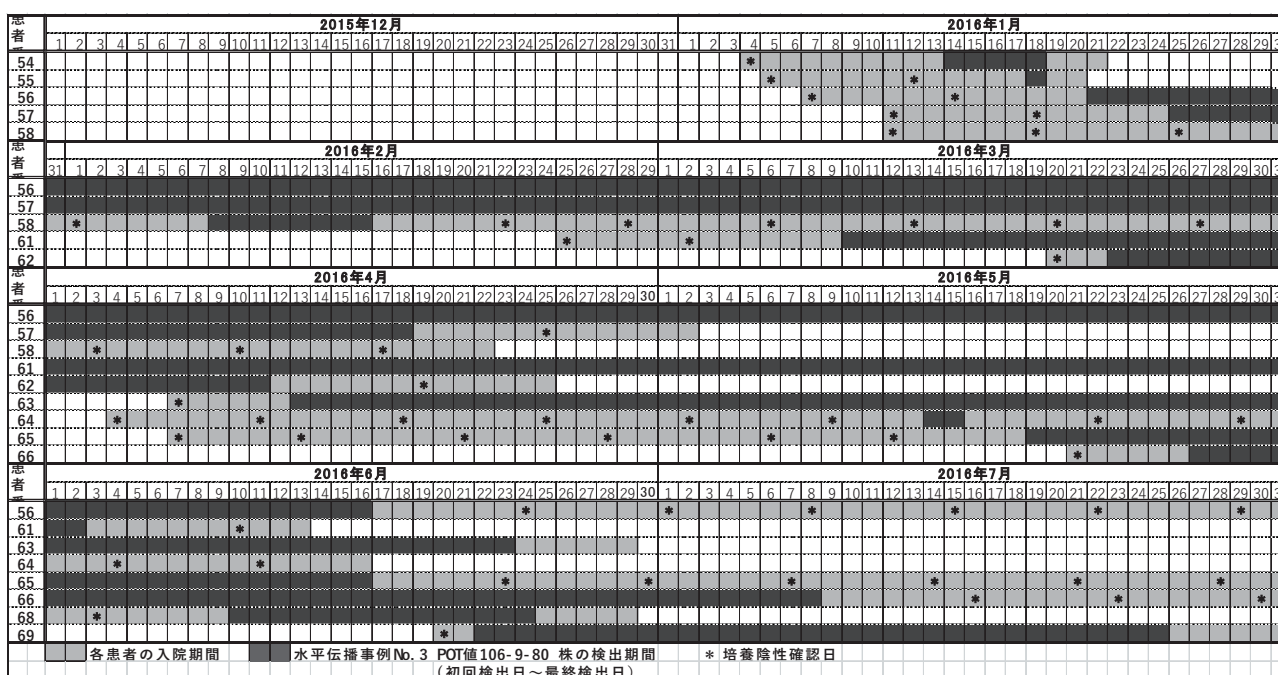


図4 新生児病棟の水平伝播事例の菌検出状況 2

ンが一致する株が複数の患者から検出された場合、水平伝播の発生が推測されるが、患者から患者への伝播の推定には、入院患者の定期的な監視培養が有用である。今回、新生児病棟の3回の水平伝播事例は、週1回のMRSA監視培養結果を時系列で示すことにより、各患者のMRSA初回検出日を把握し患者間の伝播の順を認

識できた。また2015年の2事例は、POT法導入直後で水平伝播の発端者を推定することはできなかったが、2016年の事例は、それまで新生児病棟で分離されていなかったPOT型及び抗菌薬耐性パターンの株によるもので、患者番号54が発端者であると推定できた。水平伝播と推定された各患者のクベースは、新生児病棟の同



一フロアにあったが、必ずしも隣接しておらず、複数のスタッフの手指を介しての伝播が疑われた。小児循環器病棟では、2015年9月までに4事例の水平伝播の発生を把握できたが、監視培養未実施で水平伝播順の推定はできなかったため、2015年11月より週1回のMRSA監視培養を開始し、水平伝播順の推定が可能となった。

#### ・MRSAの水平伝播把握におけるPOT法の有用性

水平伝播の検索は、POT法導入以前のコアグラマーゼ型別はI～VIII型の8種類のみでの分類であるため、毒素産生性と組み合わせても型の種類が少なく、検出される株の多くが同じ型と判定され、疑わしい事例は水平伝播として対応せざるを得なかった。今回、POT法の導入により、監視培養実施病棟において、13か月間に計7回の水平伝播事例を選び分け確認できた。POT法を利用することにより、より正確に水平伝播発生を推定でき、効果の高い対策をとることが可能となり、さらに費用や職員の負担の軽減にも貢献出来ると思われた。具体的には、1. 真の水平伝播や患者間の伝播順をより明確にすることで、スタッフの手指衛生の不備を早期に感知し実施を強化する、或いは医療機器の清拭の徹底や保菌患者のゾーニングを含む環境整備を見直すなど、具体的な感染対策強化の方向を提案出来た、2. 一方で、MRSAが検出された患者の内、水平伝播事例を新生児病棟で約半数、循環器病棟で約1/4に絞り込むことが可能になったことで、実際には水平伝播の媒体となっていない環境面の除菌や交換、スタッフの手指衛生やプリコーションに対する過剰な介入などを避け、費用や時間を真に対策が必要な個所に集中して充てることが出来た、3. 水平伝播と水平伝播以外を識別し、水平伝播の範囲と収束時期の明確な把握が可能になったことにより、水平伝播対策の期間と密度を適切に限定しえた、4. 保菌職員からの伝播を否定できたことにより、病棟職員全体の精神的負担の軽減にも役立ち、また効果に疑問のある保菌職員の除菌などの対策に係る手間や費用を削減し、当該職員のプライバシーや除菌薬による副作用などの問題も回避した、等の効果があったと考えられた。

#### ・POT法を利用した水平伝播推定の問題点

POT法の検査手技上の問題点として、アガロースゲル電気泳動の用手操作、泳動像の目視判定などの過程にヒューマンエラーの可能性があった。そのため、当センターでは対策として、1. 検出菌株に対し複数回の電気泳動実施で同一結果であることを確認する、2. 目視判定と解析は複数の技師でダブルチェックを行う、などの方法を適宜組み合わせ実施した。

同一時期・同一病棟での入院や共通のスタッフの関与など患者間での接触が確認されないにもかかわらず、POT型及び抗菌薬耐性パターンが一致した症例について(循環器病棟:POT型3種類5症例)、今回、水平伝

播と判定しなかったが、何らかの間接的経路で時期が離れて水平伝播した可能性は否定できないと思われた。

簡便・迅速で特別な装置を必要としないPOT法は、日常的な監視培養に並走して実施できるため早期の感染対策実施に貢献できると思われる。しかしPOT型或いは抗菌薬の耐性パターンが不一致の菌株について、特にPOT法での電気泳動バンド1本のみ違う型(今回検出型中では、106-137-2と106-9-2、106-137-80と106-9-80、106-105-88と106-41-88)は、Tn554等のファージの脱落による同一株の可能性を否定できず、PFGEとの比較などさらに詳細な解析が必要であるが、今回は実施できなかった。

POT法実施に係る費用対効果については、施設の規模や患者層による対象検体数、既存の器具・装置を共用できるか、アガロースゲルを自製するか、等により違いがあり、実施に係る人員の捻出の問題もあり、真の水平伝播、真のアウトブレイクを識別し過剰な感染対策を回避できることによる効果も変動要因が多く、正確な算定は難しいため今後の検討を必要とするが、感染対策の適正化による患者への利益、及び病棟職員の実務や精神的負担の軽減なども含めて総合的には有用であると思われた。

## 結 語

MRSAの定期的な監視培養とPOT法の実施により、病棟内水平伝播事例の発生及び収束の時期と患者間の伝播順を明確に把握することができ、水平伝播以外の事例を除外することが可能であった。また、特に検出頻度の高いPOT型の株間の異同の識別には、POT法と抗菌薬耐性パターンなど別の指標との組み合わせも考慮された。POT法の利用により、小児病院においてもMRSAの病棟内水平伝播について、より効果的な対策を講じることが可能になると考えられた。

謝 辞：本論文作成に当たり、ご指導ご助言いただきました大阪母子医療センター新生児科野崎昌俊先生に心から感謝の意を表します。

The authors would like to thank Enago ([www.enago.jp](http://www.enago.jp)) for the English language review.

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

## 文 献

- 1) 日本感染症学会—施設内感染対策事業—施設内感染対策相談窓口：<http://www.kansensho.or.jp/sisetunai/anser2.htm> 1：2003年3月31日現在
- 2) 山本貴子，杉浦康行，奥平正美，稲富里絵，辰巳則雄，磯部貴子，他：POT法で解明された当院新生児センターにおけるmethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

- アウトブレイクの伝播様式. 日本臨床微生物学雑誌 2016; 26(4): 311-6.
- 3) 順天堂大学 COE 感染制御科学版 MRSA 対応マニュアル : <http://www.infection-control.jp/2010/09/15/MRSA.pdf> : 2005 年 3 月現在
  - 4) Suzuki M, Tawada Y, Kato M, Hori H, Mamiya N, Hayashi Y, *et al.*: Development of a rapid strain differentiation method for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Japan by detecting phage-derived open-reading frames. J Appl Microbiol 2006; 101: 938-47.
  - 5) 山本達男, 高野智洋, TatianaBaranovich, 樋口 渉, 西山晃史 : 基礎・臨床の両面から見た耐性菌の現状と対策 6. メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA). モダンメディア 2008; 54(3): 95-103.
  - 6) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-second informational supplement. In: CLSI document M100-S22: CLSI, Wayne, PA, 2012. p. 32.
  - 7) 細谷志乃, 伊藤輝代, 三澤成毅, 吉池高志, 小栗豊子, 平松啓一 : 皮膚科外来患者由来 MRSA 株に見られる新規 MRSA クローンの出現状況. 感染症学雑誌 2014; 88(6): 840-8.
  - 8) 小川将司, 奥田和之, 笠井香里, 阿部瑛紀子, 東 良子, 香田裕樹, 他 : 当院における外来由来 MRSA 株の POT 法による解析について. 医学検査 2016; 65(4): 387-90.
  - 9) 渡辺 達, 石原由華 : 半年間で同一遺伝子型の MRSA 感染症を呈した 4 小児例. 小児感染免疫 2014; 26(4): 431-7.
  - 10) 鈴木匡弘 : Cica Geneus Staph POT Kit の原理とメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の分子疫学. THE CLINICAL TIMES 2011; 221(3): 16-21.
  - 11) 阪大病院感染制御部感染管理マニュアル : 2005 年 10 月 1 日現在.
- [連絡先 : 〒594-1101 大阪府和泉市室堂町 840  
大阪母子医療センター臨床検査部門微生物検査室 稲岡千佳子  
E-mail: saikin@wch.opho.jp]

### ***Horizontal Transmission Estimation of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus Using Polymerase Chain Reaction-based Open Reading Frame Typing at a Children's Hospital***

Chikako INAOKA<sup>1,5)</sup>, Kuniko SHIRAO<sup>1,5)</sup>, Futoshi FUJIWARA<sup>1,5)</sup>,  
Makie KINOSHITA<sup>2,5)</sup>, Takeshi HATACHI<sup>3,5)</sup> and Narutaka MOCHIZUKI<sup>4,5)</sup>

<sup>1)</sup>Clinical Laboratory Center, Osaka Women's and Children's Hospital, <sup>2)</sup>Infection Control Office, Osaka Women's and Children's Hospital, <sup>3)</sup>Department of Intensive Care Medicine, Osaka Women's and Children's Hospital, <sup>4)</sup>Department of Neonatal Medicine, Osaka Women's and Children's Hospital, <sup>5)</sup>Infection Control Team, Osaka Women's and Children's Hospital

#### **Abstract**

**Introduction:** In this study, we used polymerase chain reaction-based open reading frame typing (POT) to estimate the horizontal transmission pathway for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) detected in routine nasal surveillance culture in neonatal and pediatric wards.

**Methods:** The horizontal transmission pathway for MRSA cases detected at Osaka Women's and Children's Hospital during July 2015-July 2016 was estimated using POT and antibiotic resistance patterns.

**Results:** Of the hospitalized patients with MRSA, 81 were classified as "in-hospital acquired," and of these patients, 33 shared a history of hospitalization in the same ward during the same period (7 POT types), thereby indicating horizontal transmission. In the neonatal ward, of the 42 patients with MRSA, the number of horizontal transmission cases was 3 (22 patients), whereas in the pediatric cardiovascular ward, the number of horizontal transmission cases was 4 (11 patients). The antibiotic resistance patterns in similar POT types were consistent with all strains in the case of horizontal transmission. None of the MRSA POT type obtained from nasal cavity culture of the ward staff at the onset of the outbreak matched with the POT type of patient-derived MRSA samples.

**Conclusions:** We could distinguish multiple cases of horizontal transmission at similar durations in the same ward using POT. Therefore, this method can be useful for understanding the horizontal transmission of MRSA within a ward.

---

**Key words:** MRSA, POT method, surveillance culture, antibiotic resistance pattern, horizontal transmission