

RIBOTYPING OF CLINICAL MRSA STRAINS ISOLATED AT THE DEPARTMENT OF OTORHINOLARYNGOLOGY, JUNTENDO UNIVERSITY

Norihiro Sato¹⁾, Ginichiro Ichikawa¹⁾
Noriko Kondo²⁾, and Keiichi Hiramatsu²⁾

Department of Otorhinolaryngology¹⁾ and Department of Bacteriology²⁾
Juntendo University

Nasocomial infection caused by MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, has become an important medical problem in recent years. It has become so serious that we Otorhinolaryngologists also can not overlook it.

Eight MRSA isolates from the department were analyzed using phenotypic as well as genetic typing methods in this study. First, coagulase type and antibiotic susce-

ptibility were determined. All the eight isolates were coagulase type II, but they were classified into two groups based on the susceptibility towards various antibiotics.

In order to determine their genetic relation, ribotyping was performed with genomic DNAs extracted from the eight MRSA strains.

リボタイピングを用いた当科検出の MRSAの検討

佐藤 典史 市川 銀一郎¹⁾
近藤 典子 平松 啓一²⁾

1) 順天堂大学耳鼻咽喉科学教室

2) 順天堂大学細菌学教室

はじめに

MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌), が1960年代に, 英国で初めて, 分離されて以来, 世界中に蔓延し猛威を振るっている. 又近年, 我が国においてもこのMRSAの院内感染が増加し, 我々耳鼻咽喉科医にとっても見逃すことのできない重要なものとなってき

ている¹⁾⁻²⁾. そこで, 今回我々は平成4年3月, 当科において, 入院患者, 医師, 看護婦, を対象に鼻前庭より, MRSAを検出した. また今回新たに当科入院患者よりMRSAを検出した. そしてさらにそれらを分離し疫学的検討を試みた.

対象と方法

1991年, 3月当科において, 入院患者, 医師, 看護婦, を対象に鼻前庭よりMRSAを検出しさらにそれらを分離し疫学的検討を試みた. まず分離されたこのMRSAに対してコアグララーゼ型別試験を行ない, 次にメチシリン, イミペネム MICを測定した. さらにペニシリンG, メチシリン, セファゾリン, セフメタゾン, セフォチアム, ゲンタマイシン, トブラマイシン, アミカシン, ミノサイクリン, エリスロマイシン, クリンダマイシン, オフロキサシン, セフトゾキシム, テトラサイクリン, バンコマイシン, 15種類の薬剤感受性検査を施行した.

最後にこのMRSAに対して, 黄色ブドウ球菌の染色体上の6ヶ所に散在するリボゾームDNAを用いてサザンハイブリダイゼーション法による遺伝子解析を行った. その方法は, 各MRSA株から染色体DNAを抽出し, 制限酵素 *Hin* dIIIにて切断し, アガロースゲル

リボタイピングの方法

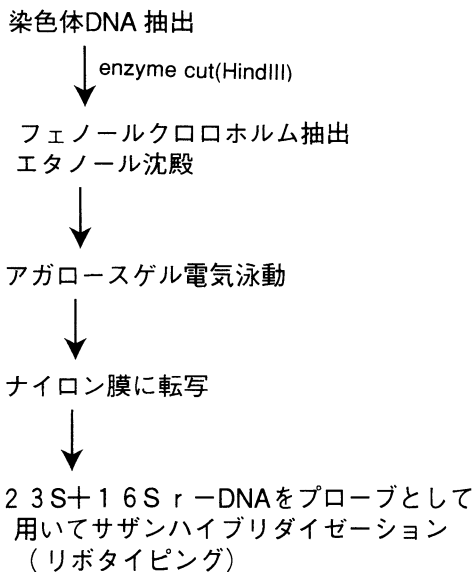


Table 1 Ribotyping Method

電気泳動後ナイロン膜に転写し, リボゾームDNAを検出するプローブを用いてRFLP, (restriction fragment length polymorphism)により, 切断パターンの違いをみるものであり, このような方法をリボタイピングと呼んでおり, 近年国内外で広く用いられはじめた方法である (Table 1). リボタイプは, 多くの株を幾つかのパターンに分類することができ, 系統樹を作成することができる³⁾⁻⁴⁾.

結果

当科におけるMRSAの検出状況を示した. 対象全体の54例中8例(14.8%)にMRSAを認めた. 内訳は, 入院患者22例中3例(13.6%), 医師12例0例(0%), 看護婦20例中5例(25%)であった. コアグララーゼ型別試験の結果とメチシリン, イミペネムのMICを測定した. コアグララーゼ型は総てII型となった. ただし, 分離された8株のMRSAはそれぞれ別の患者, 医師, 看護婦より分離された株であり, 検体番号, 患者1, 2, 3, は患者由来であり, 検体番号, 看護婦4, 5, 6, 7, 8, は看護婦由来の株であった. メチシリン, イミペネムのMICはメチシリンでは, 128 μ g/ml以上, イミペネムでは32 μ g/ml以上の高度耐性株であった (Table 2).

また, 上記15種類の薬剤感受性検査の結果は2種類のパターンを示した. 検体番号患者1をタイプ1, 検体番号患者2をタイプ2と

検体番号	コアグララーゼ型	DMPPC MIC (μ g/ml)	IPM MIC (μ g/ml)
患1	II	>128	>32
患2	II	>128	>32
患3	II	>128	>32
看4	II	>128	>32
看5	II	>128	>32
看6	II	>128	>32
看7	II	>128	>32
看8	II	>128	>32

Table 2 Coagulase and β -lactam susceptibility of the MRSA strains

薬剤 検体番号	PCG	DMP PC	CEZ	CMZ	CTM	GM	TOB	AMK	MINO	EM	CLDM	OFLX	CZX	TC	VCM
患1	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S
患2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
患3	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S
看4	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S
看5	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S
看6	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S
看7	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S
看8	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	S

R: 耐性 S: 感受性

Table 3 Susceptibilities of various antibiotics

PCG: ペニシリンG, DMPPC: メチシリン, CEZ: セファゾリン, CMZ: セフメタゾン
 CTM: セフォチアム, GM: ゲンタマイシン, TOB: トブラマイシン, AMK: アミカシン
 MINO: ミノサイクリン, EM: エリスロマイシン, CLDM: クリンダマイシン, OFLX: オフロキサシン
 CZX: セフトゾキシム, TC: テトラサイクリン, VCM: バンコマイシン

すると、タイプ1には検体番号患者3，看護婦4，5，6，7，が一致した。

またタイプ2には看護婦8が類似した。このように当科におけるMRSA分離株は患者1，2，を中心として2つに分けられた。またこの8菌株は、トブラマイシンには総て耐性、バンコマイシンには総て感受性であり、テトラサイクリン、ミノサイクリンには比較的感受性を示す株が多いのが特徴であった (Table 3)。さらに当科におけるMRSA株と順天堂大学細菌学教室にストックされているMRSA株、(アメリカ由来のトブラマイシン耐性株85/2235, コアグラゼII型でトブラマイシン耐性株の現在関東地区に広く蔓延している高度耐性株KH20, S6007)の3株を加えてリボタイプを施行した。結果は総てのバンドのパターンはほぼ一致し、同一のリボタイプであった (Fig. 1)。

さらに当科入院患者より新たに分離したMRSA 4株にリボタイプを施行した。これ

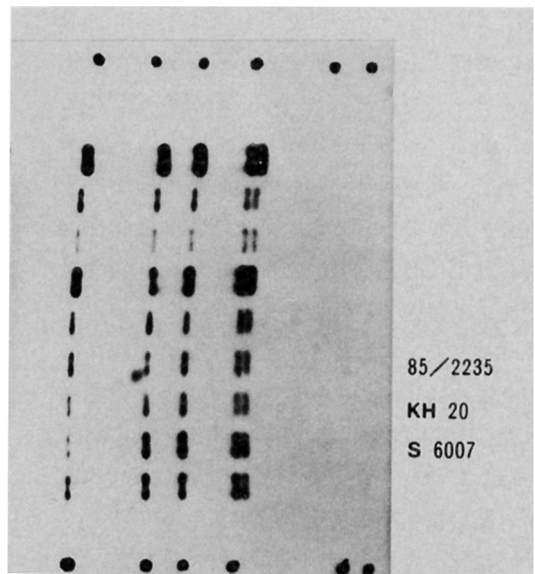


Fig. 1 Comparison of ribotypes of the MRSA Strains in the department of otorhinolaryngology and Bacteriology, Juntendo University.

ら4株も同様に同一のリボタイプであった (Fig. 2)。

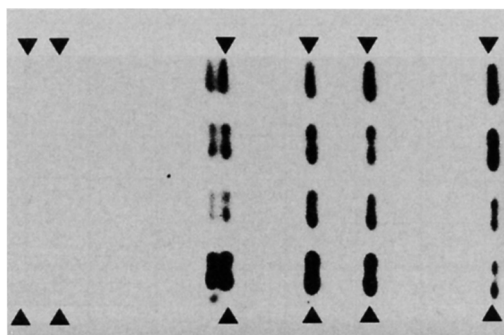


Fig. 2 Ribotypes of 4-MRSA strains in our department.

考 察

当科におけるMRSAの特徴は第1に、MRSAの検出する割合が医師12例0例(0%)に比べ、看護婦20例中5例(25%)と非常に高いことであり、医師よりも看護婦のほうが、より長く患者に接する機会が多く看護等で直接患者に触れる事もあり、さらに不十分な消毒(手洗い等)、が原因と考えられた。第2に、コアグララーゼ型は総てII型となった。最近の傾向としてIV型中心からII型へと変化しメチシリン、イミペネム MICもそれぞれ128 μ g/ml以上、32 μ g/ml以上の高度耐性株で、高度耐性化しつつある事は種々の報告と一致している⁵⁾⁻⁹⁾。第3に薬剤感受性検査の結果は2種類のパターンに別れトブラマイシンには総て耐性、テトラサイクリン、ミノサイクリンには比較的感受性を示す株が多く、これは本来ごく初期にイギリスで分離されたMRSA株ではテトラサイクリン系に耐性を示しており¹⁰⁾、この点当科では、 β -ラクタム系の抗生剤の使用頻度がテトラサイクリン系に比べて多いのが誘因と考えられた。最後に検出されたMRSA 8菌株及び新たに検出された4株のリボタイプは一致し、ほぼ同一のバンドのパターンを示した。以上より、当科におけるMRSAは分子遺伝学的には関東地区に広く蔓延している株と同一、もしくは遺伝的に近縁のものであると考えられた。

おわりに

以上、当科におけるMRSAを分子遺伝学的手法(リボタイプング)を用いて解析した。当科でのリボタイプは一致し、ほぼ同一のバンドのパターンを示した。今後、さらに他の分子遺伝学的手法を用いてより細かな検討を加えていきたいと思う。

最後に実験に協力していただいた順天堂大学細菌学教室の皆さんに深謝致します。

文 献

- 1) 横田 健; MRSA 感染症. 臨床検査 32; 770-775, 1988.
- 2) 横田 健; MRSA の歴史と現状. MRS A 感染症の現状と対策(横田 健編) P9-P20, メディカルビュー社, 1990.
- 3) 平松啓一; MRSA の分子遺伝学. 日本臨床 50; 20-26, 1992.
- 4) 平松啓一; MRSA とは. 泌尿外科 5; 365-368, 1992.
- 5) 竹本芳生, 横山 隆, 村上義昭, 他; メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)におけるコアグララーゼ型と薬剤感受性に関する検討. 日外会誌 90; 5-11, 1990.
- 6) 竹本芳生, 横山 隆, 村上義昭, 他; 院内感染としてのメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の検討 Chemotherapy 37; 137-142, 1989.
- 7) 西順一郎, 吉永正夫, 松山佳織, 他; 当院におけるMRSA院内感染の様相, 第一報; コアグララーゼ型別による検討. 感染症学雑誌 65; 1123-1129, 1989.
- 8) 戸坂雅一, 山根正久, 岡部鉦明, 他; 熊本大学病院中央検査部におけるMRSA分離状況と薬剤感受性. 日本臨床 50; 57-62, 1992.
- 9) 小栗豊子; 順天堂医院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の現況. 順天堂医学 34; 323-333, 1988.
- 10) 平松啓一; メチシリン耐性の遺伝的多様

性. 化学療法の領域 Vol. .7 ; 48-57,
1991.

質 疑 応 答

質問 田村真司 (和歌山医大)

MRSAのリボタイピングと薬剤感受性には
関連があるか.

質問 中島庸也 (東京共済病院)

MRSAを検出するのに, 鼻前庭から検体
を採取するのは, 検出率が高いからか, また
は容易に採取できるからか, あるいは他に特
別な理由があるのか.

応答 佐藤典史 (順天堂大学)

薬剤感受性とリボタイプは現在の段階では
一致していない.

応答 佐藤典史 (順天堂大学)

鼻前庭よりMRSAを分離する事は文献よ
り鼻咽頭特に鼻前庭にMRSAが特に存在す
る事が多いのでそれにしただった.