

平成 14 年度厚生労働科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

「新生児および乳児の MRSA 感染等の院内感染のリスク評価および対策に関する研究」

分担研究報告書

NICU での手袋使用を中心とした MRSA 対策と保菌状況の変化

分担研究者 側島久典 名古屋第二赤十字病院 第二小児科部長

研究要旨

NICU での MRSA 感染症対策を進めるにあたって、菌の保有状況を把握しつつ対策を考慮するのは極めて重要である。NICU 入院児の咽頭および鼻腔 MRSA 保有率と動向を把握し敗血症などの全身への感染を予防する必要がある。名古屋第二赤十字病院 NICU では、児のケアに当たって手洗いの励行に加え、手袋の使用を全面的に進めるとともに、装着した手袋をさらにアルコール消毒を行うことで、MRSA 保有率の著明な減少に至ったので、環境調査、手袋使用の他に保有減少に影響した要因などにつき検討を加えて報告する。

研究協力者

名古屋第二赤十字病院小児科

山田恭聖、田中伸幸、梶村いちげ

A 研究目的

NICU での MRSA 感染対策の 1 つに、患児の保菌状況調査がある。名古屋第二赤十字病院 NICU では咽頭・鼻腔培養検査を定期的に行い、保有状況を把握するとともにその数を減らすために手洗いと手袋使用による日常操作を平成 13 年 9 月より徹底してきた。入院時には全症例に咽頭培養、便培養、血液培養、便培養を行いとくに院外出生児の入院に際しては結果を得る前に手洗いを主に十分な注意を払っている。すでに院内感染対策システムの 1 つとして、MRSA 発生時は細菌検査室から直接病棟へ電話連絡の後、自動的に病棟主治医へ発生報告書を発行、確認後カルテ保存する方法を採用している。またその終了にあたっては、一定の条件を満たすことを確認した後委員会より終了報告書を、発

行確認しカルテ保存としている。今回手袋着用さらに手袋をアルコール消毒したのち操作を行う方法によって、MRSA 保菌率を低下することができたので、環境調査結果も含め、考察を加えて報告する。

B. 研究方法

名古屋第二赤十字病院 NICU は年間 250～300 例の入院数で、院内出生と院外出生は 100～120 例、加えて 40～50 例の母体搬送後出生例がある。人工換気例は年間 110～120 例、20 例前後の超低出生体重児をケアしている。平成 13 年 9 月までの咽頭 MRSA 保菌率はイソジンによる消毒後の手洗いを行っているにもかかわらず 40%から 50%であった。多くの挿管管理児が開始 2 週間程度で MRSA 陽性となっていた。咽頭培養検査は週 1 回定期的に全員に行われ、定期検査および、それ以外でも MRSA 保菌が確認されれば培養検査は継続した。

そこで平成 13 年 9 月からは以下のような

操作とした。

- 1) 手洗いは肘から手指までの基本を守る。
 - 2) 手袋着用前、脱いた後の手洗いをを行う。
 - 3) 1 処置 1 手洗い 1 手袋。
 - 4) 手袋着用+リナパス塗擦。
 - 5) 医師の点滴時も原則手袋だが、未着用でも可。
 - 6) 手指の温度感覚の低下に注意。
- 本手技は保育器ケア児とコット移床児で MRSA 保菌児とした。

第 2 の対策として、挿管管理児の気管内引はトラックケアを使用する。

- ・挿管吸引にあたっては手袋着用かつトラックケアを使用
- ・気管内挿管以外の吸引もすべて手袋を着用する。吸引器は挿管管理児について 2 台使用する。

第 3 には物品の個別管理である。

- ・患児個々に専用ボールペンを使用、はさみ、イソジン液、アルコール綿、テープなどセットとしてケースで使用する。

本操作開始にあたり、スタッフの手洗い前、手袋、消毒後の手袋、保育器とその周辺の細菌検査を行い環境調査とした。

C. 研究結果

環境調査対象および一部検出菌を表に示す。

手袋	3 ポイント * 3 名	洗浄	洗浄後	使用
看護師	掌 * 7 名			
医師	掌 * 3 名			
机	2 フロアー	3 ポイント,	4 ポイント	
床	2 フロアー	2 ポイント,	4 ポイント	
保育器	8 ポイント * 9 ベッド			
哺乳瓶周囲			陰性	
ストップウォッチ			陰性	
紙/ベビー用スイッチ			S.epidermidis	
オーダー端末	マウス		陰性	
電話: 受話器			MRSA	
			S.epidermidis	

表 調査対象と菌検出結果

挿管管理中の保育器内落下細菌では一部から MRSA, *Staphylococcus epidermidis* が検出された。保育器内で使用している吸引チューブ周辺からも MRSA, *Enterococcus fecaris* など分離された。保育器からの菌検出状況を表 2 に示す。

保育器番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
扉取手		+	○		+		+	+	
扉外側									
扉内側				+	+				
吸引チューブ内側	+				○				
吸引チューブ外側				+					
保育器前面外側	+	+						+	+
保育器前面内側									
保育器内マット			○			+	○		

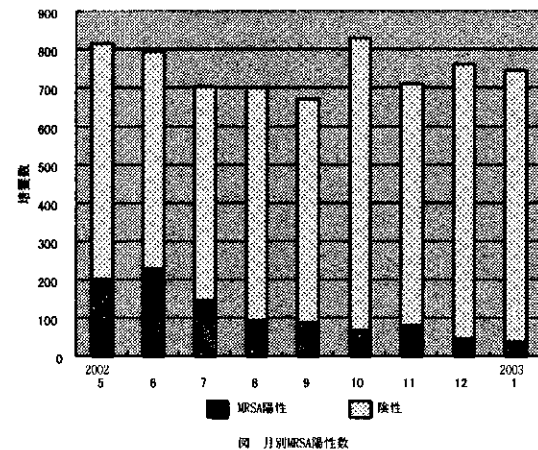
○MRSA +菌検出

表 2 保育器内菌検出状況

医師、看護師の通常手洗い後の手掌からは *Staphylococcus Captis*, *Gram (+) coccus*, *Gram (-) Bacillus*, *Gram (+) Bacillus* など検出された。しかしアルコール消毒後の手袋からは菌は検出されなかった。

このことをふまえて新しい手袋着用を主とする MRSA 対策を展開し、定期咽頭培養結果を行った。

また経過中には緑茶によるマウスケアの導入も平成 14 年 8 月より行われた。



咽頭培養による MRSA 陽性率本対策後徐々

に減少し、平成14年1月には35%、同5月には25%となった。その後更に減少し、2003年1月には5.3%まで減少するに至った。この間の入院児の profile は前年と特に変化は見られず、むしろ長期挿管を必要とする超低出生体重児がやや増加していると思われる。

D. 考察

MRSA 保菌児への対策を行うにあたり、他児への伝播の主要因は医療従事者の「手」を介することが最重要との観点から、これを断ち切るべく手袋を使用し、更に手袋を消毒する操作を加えることによって徐々にではあるが、保菌率を減少させることが可能であった。現在保菌している患児は長期入院1名のみで、他施設からの転院であるが、入院時すでに保菌しており、挿管チューブ外側へのバクトロバン塗布によって一時的には消失するものの、約1ヶ月程の期間において再出現をくり返している。薬剤感受性は徐々に改善しているものの長期消失をみていない。

また同時に行ったトラックケアによる気管内吸引の開始、物品の個別化も相乗効果をもたらしたものと考えられる。

保育器内に検査機器そのものを持ち込まないことも重要である。日常的に行われる簡易血糖検査においても、検査用のチップは保育器内へ入れることはあっても測定機器本体は別になっている機種を選定も保菌率減少への一因となる。簡易血糖計機種が豊富になった現在、NICUでのルチーン検査に関してこのような選択は有用と考えられた。NICUでのMRSA保菌対策として保育器収容児への手袋着用に必要な費用は多大である。

今後省略できる手順についての検討を考える必要がある。

今後の課題として

- 1) MRSA 以外の咽頭細菌叢の分析
 - 2) 他施設とくに関連 NICU からの依頼入院における MRSA 対策
 - 3) 術後症例で手術室などから帰室後の感染対策
- などの検討が必要となろう。

E. 結論

NICUでのMRSA感染対策をすすめる上で、入院患児の咽頭および鼻腔MRSA保菌状況の把握とその数の減少への努力は大きな意味があり、手袋使用をはじめとする総合対策をすることで、可能となった。昨年報告した医療従事者の保菌状況把握および対策とともに更に充実をはかりたい。

早産児に対するプロバイオティクスとしてのビフィズス菌投与による腸内細菌叢への影響
および院内感染予防に関する研究 超早期哺乳の影響について

分担研究者 志賀清悟 順天堂大学伊豆長岡病院新生児センター センター長

研究要旨

在胎 37 週未満で出生した早産児に対し bacterial translocation に起因する新生児重症感染症を予防する目的で *Bifidobacterium breve* の投与を行い、腸内細菌叢、特に *Bifidobacterium flora* の形成について検討し、平成 13 年度には以下のような結果を報告した。1) 早産児における *Bifidobacterium flora* の形成は正常産児に比べ遅れた。2) 在胎週数と *Bifidobacterium flora* 初回検出日齢とは負の相関を示した。

平成 14 年度は超早期哺乳が *Bifidobacterium flora* の形成におよぼす影響について検討を行った。

その結果超早期哺乳群においては対照群に比してビフィズス菌の検出は早く、腸内細菌によると考えられる細菌感染症は減少し、新生児壊死性腸炎は認めなかった。

超早期哺乳は *Bifidobacterium flora* の早期形成に有効であり、細菌感染の予防効果があると考えられた。

研究協力者：梅崎 光 順天堂大学伊豆長岡病院
新生児センター

A. 研究目的

新生児腸内細菌叢は出生直後の無菌状態から、周囲の細菌叢の暴露により、*E. coli*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, などが腸内細菌叢を形成する。生後 3～4 日目には *Bifidobacterium* の出現を認め、*Bifidobacterium* の増殖と共にそれまで主体を占めていた、*E. coli*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* などは抑制され、生後約 1 週間で、新生児の正常細菌叢である *Bifidobacterium flora* が形成されるとされている。そして、この正常細菌叢の形成が代謝機能、腸管内での感染防御に対し重要な役割を果たしている。

一方、早産児においては、出生前後の環境や NICU での医師、看護師との接触によって成熟児とは異なった保育環境にあること、種々の抗生剤

が長期にわたり使用されること、経腸栄養の確立が遅延することなど様々な影響により、その正常細菌叢である *Bifidobacterium flora* の形成が遅れ異常な細菌叢が形成されることが指摘されている。そして、早産児における感染症の多くが異常細菌叢に伴う bacterial translocation に起因することが指摘され、早期に腸内細菌叢を確立させることが重要である。正常腸内細菌叢を確立させるためにビフィズス菌製剤の投与による細菌感染予防の効果が検討されてきている。今回、我々は在胎 37 週未満で出生した早産児に対し生後 24 時間以内に母乳を開始することにより *Bifidobacterium flora* の出現時期について比較検討する。

B. 研究方法

平成 11 年 9 月から平成 14 年 6 月までに、当院新生児センターに入院した在胎 37 週未満で出生した早産児のうち、母乳による経管栄養が

50%以上である40例を対象とした(表1)。対照群は生後48時間以降に母乳を開始し、その後 *Bifidobacterium breve* 菌を投与した。超早期哺乳群は厚生科学研究班のプロトコールに基づいて行い、生後24時間以内に母乳を開始すると同時に *Bifidobacterium breve* 菌を投与した。対照群は26例、超早期哺乳群は14例で、在胎週数および出生体重等には有意差は認めなかった。

ビフィズス菌製剤は森永乳業、*Bifidobacterium breve* (以下ビ菌と略す) を使用、1日量として0.5g、 5×10^8 細胞数を母乳1日量に溶解し、胃内注入とした。投与開始時期は、経管栄養開始時とした。肛門刺激により生後1週、2週、3週、4週、6週、8週、10週に採便を行い、採便後直ちに嫌気性液体輸送培地に移し二酸化炭素にて置換し各種培地にて検索を行った。糞便中の腸内細菌叢の検索は光岡らの方法に準じて行った。

染色体異常、消化管異常、その他重大な先天異常を認める症例は除外した。*Bifidobacterium breve* の投与については少なくとも片方の親から事前にインフォームドコンセントが得られた症例に対して行った。

C. 研究結果

対照群において、在胎週数が大きいほどビフィズス菌の検出時期は早かった(図1)。在胎週数と検出日齢との間には負の相関を認めた。超早期哺乳群では対照群に比してビフィズス菌の検出が早い傾向が認められた(図2)。ビフィズス菌の検出日齢は、対照群 28.1 ± 12.9 日に比して超早期哺乳群では 17.9 ± 12.3 日であった。また腸内細菌によると考えられる細菌感染症は減少し、新生児壊死性腸炎は超早期哺乳群では認めなかった。

D. 考察

低出生体重児はNICUという特殊な環境に加え、抗生剤の長期投与や母乳栄養確立の遅れなどにより正常な腸内細菌叢の確立が障害され異常細菌が増殖し、そのために腸内の異常細菌が新生児重症感染症の一因となっていることが多いとされている。このため、正常腸内細菌叢の早期確立が感染予防の点で有効とのことから正常腸内細菌叢の早期確立のためプロバイオティクスとしてビフィズス菌製剤投与が試みられ、その効果について報告されている。

今回の研究では、生後24時間以内に母乳を開始する超早期哺乳群において、在胎週数別の *Bifidobacterium* の検出時期を生後48時間以降に母乳を開始した対照群と比較検討した。その結果超早期哺乳群では対照群に比してビフィズス菌の検出日齢は、対照群28.1日から17.9日に短縮されたことが判明した。また新生児壊死性腸炎は超早期哺乳群では認めなかった。超早期哺乳群においてその効果が認められなかったのは2症例であった。1例は在胎28週478gの重症の子宮内発育不全の児で、生後も経管栄養がたびたび停滞した症例であった。1例は在胎24週478gでアプガースコア1点の重症仮死の症例で、全身状態が不良なため経管栄養が予定通り進行できなかった。以上のように何らかの理由で経管栄養が滞る場合は超早期哺乳を行っても *Bifidobacterium* の定着は遅れることがある。

生後24時間以内に母乳を開始することにより種々の効果が期待できるが、*Bifidobacterium flora* の形成という観点からも有効であると思われる。またプレバイオティクスとしてオリゴ糖の併用投与、ラクトフェリンの併用投与を検討する予定である。さらに感染症発症頻度を検討し、ビフィズス菌製剤投与の臨床的効果を検討する。

E. 結論

超早期哺乳群においては対照群に比してビフィズス菌の検出は早く、新生児壊死性腸炎は認めなかった。

超早期哺乳は *Bifidobacterium flora* の早期形成に有効であり、細菌感染の予防効果があると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 佐藤弥生、篠原公一、梅崎光、志賀清悟、久田研、山城雄一郎： 早産児の腸内フローラに関する研究 第38回日本新生児学会 2002. 7/14 - 7/16 神戸

对 象

	超早期投与群	对照群
症例数	14	26
性别 (M/F)	7/7	17/9
在胎週数 (週)*	29.3(2.6)	28.9(3.7)
出生体重 (g)*	1237.7(480.9)	1171.2(523.8)
出生方法(c-s/vaginal)	10/4	23/3
NEC	0	1

*:Values represent mean(SD)

NEC:Necrotising enterocolitis

图1

Colonisation of Bifidobacterium

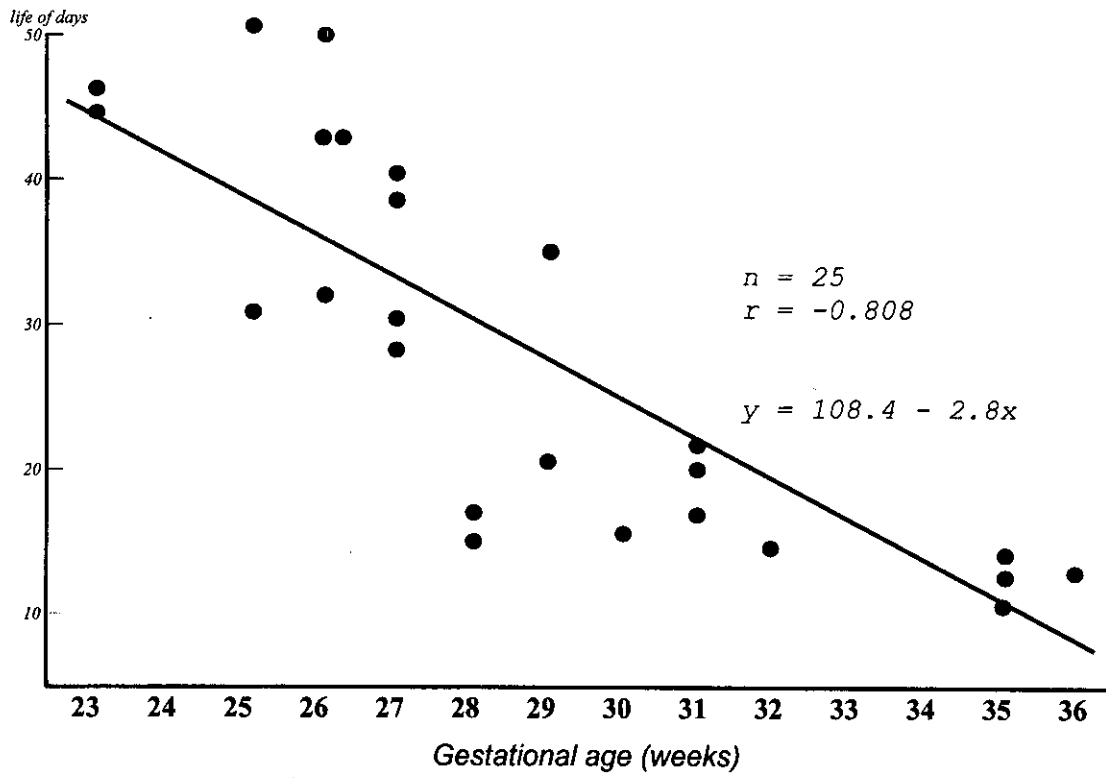
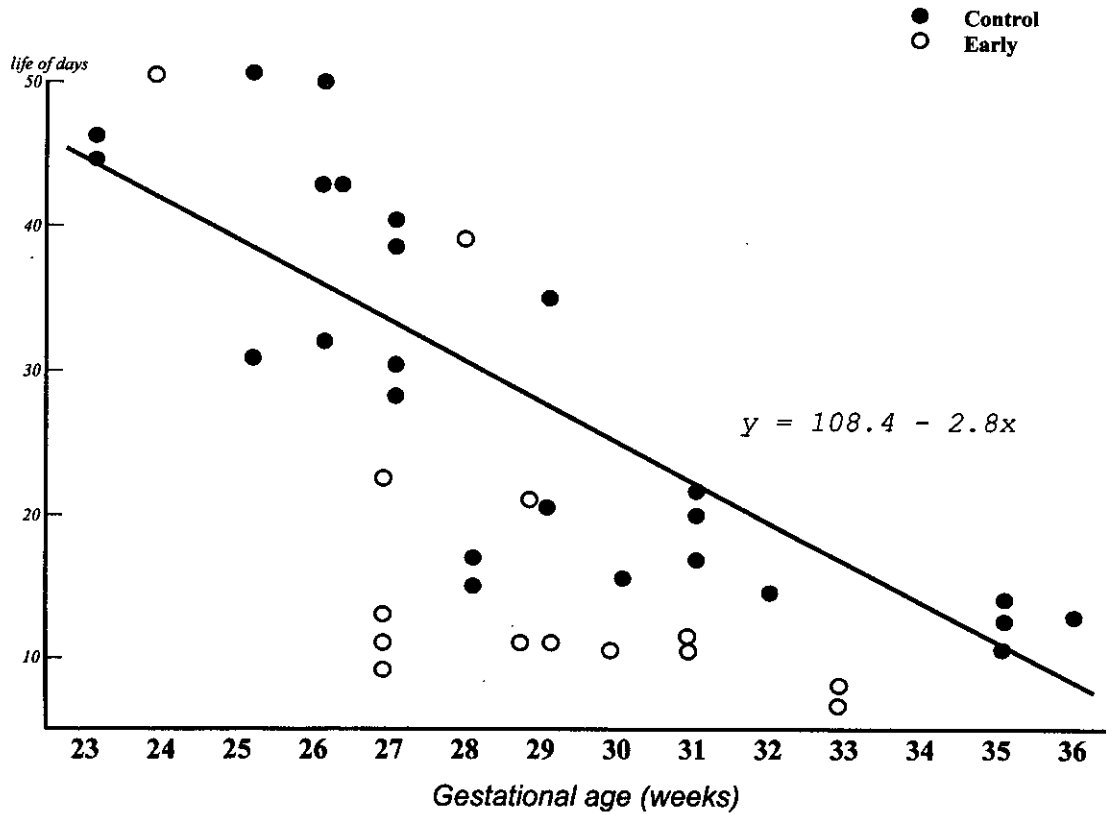


图2

Colonisation of Bifidobacterium



厚生労働科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）
分担研究報告書

出生直後のカンガルーケアが NICU 入院児の細菌感染症に及ぼす影響

分担研究者 堀内 勁 聖マリアンナ医科大学 新生児センター 教授

研究要旨

NICU での院内感染予防対策は他の年齢層での院内感染と異なる側面を有している。それは出生直後には細菌叢が形成されていないことに代表される。従って、院内の病的細菌が容易に新生児に形成され、それが第 2、第 3 の感染サイクルを形成する。そこで出生直後の母子の skin to skin contact を行うことが低出生体重児に健全な細菌叢の形成を促進するかどうか研究した。低出生体重児でも母親からの伝達により健全な細菌叢が形成され、NICU での院内感染予防の一部となりうることが示唆された。

研究協力者

亀田佳哉 聖マリアンナ医科大学／助手

A. 研究目的

一般的な院内感染予防対策は病院内から院内感染を引き起こしうる病原体を除去することが基本とされてきた。しかし、NICU の MRSA 除菌対策の殆どが効果的でないことも明らかになってきている。

一方、新生児期は胎内環境から急激に一般環境への変化への適応がおき、細菌学的環境についても適応が不可欠となる。すなわち、新生児の常在細菌叢の形成は環境からの無症候性感染によって引き起こされるともいえる。もしその環境細菌が病原性を有するものであれば、院内感染として特定される。

また、健康な妊産婦の殆どは特有な健康細菌叢を有しており、満期産正常児は母親による抱擁、授乳などの日常的接触を介して健康細菌叢を獲得していく過程がある。しかし、NICU に

入院する低出生体重児はいかなる手段を講じたとしても環境からの細菌叢を主として NICU 介護者の手によって獲得、もしくは感染し自分のものとしていく。一方発展途上国では skin to skin care program により低出生体重児の感染症が減少することが知られている。そこで出生直後に低出生体重児をそのまま母親と皮膚接触させ、母体皮膚の常在細菌を伝達させることを試み、低出生体重児の細菌叢形成に影響するかどうかを検討した。

B. 研究方法

対象は聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院で経膈分娩にて出生した胎 28 週から 32 週の早産児とした。

重症の先天異常がない、生後永続的な救命医療が必要としない児を対象とし、親権者の承諾が得られない児、もしくは医師が適応でないと判断した児は除外した。

（倫理面への配慮）

本大学の倫理委員会の承認のもと

に研究を行った。

本研究開始前に、試験の目的、方法、予測される効果と副作用および他の治療法、さらに、被験者である新生児の母親が本試験に同意しない場合であっても不利益は受けないこと、同意した場合でも随時これを撤回できること、新生児とその母親の人権保護など必要な事項について被験者に十分説明し、母親の自由意思による同意を文書で得た。

生後の処置（吸引、換気、挿管している場合は気管チューブを確実に固定する）が終了したら、立ち会い医師が「赤ちゃんを抱っこしてみますか」と、母親の了解をさらに得た。分娩台をギャジアップし、母親の胸に裸のままの低出生体重児をのせ、児の安定した位置を確認して温めたバスタオルで覆い、モニターは出生直後にパルスオキシメーターを足に貼付して行った。

実施中は静かな環境を整え、そのまま、30分間見守り、異常と判断した場合や、母親が希望したら直ちに中止とした。

母親の新生児と接触した部位の皮膚と入院後の新生児の細菌培養結果を比較し、母親の健常な常在細菌叢を獲得できたかどうかを検討した。

C. 研究結果

平成14年5月から12月末までの期間に聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院で経膈分娩にて出生し、親権者の承諾が得られた5名の早産児に対して研究を行った。

表1に対象となった患者背景を示した。一例のみ呼吸状態の悪化から、カンガルーケアが短時間となり、呼吸窮迫症候群のため人工換気を要したが、ほかは母親とともにゆったりとした時間が過ごせた。

表2に各患者の細菌培養結果を示した。MRSAのほかNeisseriaやViridansなどの細菌が検出されたが、今回の研究では感染症を発症した症例はなかった。

D. 考察

今回の研究では多数例の検討はできなかった。母体合併症のため帝王切開による分娩が多く、経膈分娩の症例が少なかった。しかし、5症例のなかでも生後早期に証明された細菌は生後2週間でも検出された。このことは出生直後に適切な細菌叢が形成されれば、NICUでの低出生体重児の院内感染予防となり得るものと考えられる。一例のみMRSAが早期から検出されたが、カンガルーケアが短時間しか行えなかった症例だった。母親から健常な細菌叢を得るには短時間ではなく、ある一定期間の皮膚接触が必要と推測される。生後1ヶ月でMRSAが検出された症例もみられるが、同時に健常な常在細菌も検出されており、MRSAによる感染症をおこすことなく経過した。

正常新生児において出産直後にカンガルーケアを行った母子の細菌叢は、ゲノムプロファイルが一致したと林（第6回カンガルーケアミーティング）らは報告している。新生児の常在細菌叢の形成は早期に接触した細菌ほど優性となることがブドウ球菌において報告されており、低出生体重児でも同様のことがおこっていると考えられた。

以上のことから出生直後の母体との皮膚接触がNICUの院内感染予防対策の一部となりうる可能性があると思われる。母体の病原体C. albicansが低出生体重児に証明された症例もみられた。出生直後の皮膚接触により伝播されたかは不明だが、母体の微生

物学的モニターを併用しながら、研究を行う必要があると考える。

E. 結論

出生直後の母子の skin to skin contact は NICU に入院する低出生体重児の正常な細菌叢形成に役立ち、NICU の院内感染予防の可能性が示唆された。しかし、症例数を重ねさらなる検討の必要があると考えられた。

F. 研究発表

なし

NICU で発生した新生児 MRSA 感染事例の分子疫学的解析

分担研究者 荒川 宜親 国立感染症研究所 細菌第二部

研究要旨

2002 年に西日本地区の病院の NICU において 7 例の新生児に MRSA が感染し、7 例中 4 例がブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群 (SSSS) を発症した。患児より分離された MRSA の遺伝子型をパルプフィールド電気泳動で解析したところ、7 株の MRSA は全て同一の遺伝子型に分類され、NICU 内での施設内伝播の可能性が強く示唆された。さらに、同時期に他の病棟 (2カ所) で分離された MRSA の遺伝子型を解析した結果、9 株中 8 株が NICU で分離された MRSA と同じ遺伝子型を持つことが判明した。以上の結果から、NICU 内で新生児に感染し SSSS の原因となった MRSA は、同施設内の他病棟から持ち込まれた可能性が高いと考えられ、当該施設では、通常の院内感染対策に加え、他病棟からの MRSA の侵入を防止する対策を講じ、新たな MRSA の侵入の阻止に成功している。事例解析より、NICU での発症例は、症例 13 を除いて全て生後 5 日以内の早期新生児期であり、非発症例は生後 13 日以上経過した児であった。症例 13 は、口周囲の軽い痂皮化を伴う紅斑が数日観察され、その炎症部位からのみ当該 MRSA が検出された。また非発症例では気管からのみ当該 MRSA が検出され、体表からは表皮ブドウ球菌あるいは毒性のない MSSA が検出されており、MRSA の皮膚への定着がこれらの菌により阻止されたことを示している。この経験は他の同様な新生児、未熟児を治療するユニットにおける MRSA 対策を向上させる上で重要な示唆を与えるものと考えられる。

協力研究者

蒲地 一成 国立感染症研究所 細菌第二部
山本 明彦 同 上

A. 研究目的

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、現在、医療施設の各科診療領域において、院内感染症をもっとも多く発生させる日和見感染症起因菌であり、有効な抗菌薬が限定されることから新生児、高齢者、外科手術後患者などに重篤な感染症を引き起こす原因菌として警戒されている。一般に健常者が MRSA に感染した場合、多くは発症には到らないが、感染症に対する防御能力が未発達である未熟児や新生児では、皮膚炎、肺炎、敗血症、髄膜炎、ブドウ球菌性熱

傷様皮膚症候群 (SSSS) など様々な感染症を引き起こすことがある。これまで SSSS の原因となる黄色ブドウ球菌は、メチシリンなどに感受性を示すいわゆる MSSA が多く、治療や対策は比較的容易であった。しかし、近年、MRSA による伝染性膿痂疹や SSSS の症例も国内で散発的に報告されるようになり警戒されつつある。SSSS は適切な抗菌薬療法により重症化を避ける事が可能であるが、全身の表皮に水疱が広がり見た目にも非常に特異な容態を示す為、SSSS が NICU などで発生し院内感染等を引き起こした場合、患児の保護者のみならず、周囲の入院児の保護者等に対し非常な恐怖心を与えるため、その発生の防止が重要となっている。

特に、新生児集中治療室 (NICU) は、その高

い室温と湿度から MRSA が保育器や沐浴槽などに施設内細菌叢として定着しやすいとされており、各科診療施設の中でも院内感染のリスクが高い施設に位置付けられている。本研究では西日本地区のある病院の NICU において SSSS を発症した患児から分離された MRSA の遺伝子型について解析の依頼があった為、パルスフィールド電気泳動解析を実施し、NICU における院内感染の可能性および、その侵入経路について検討した。

B. 研究方法

菌株：2002年9月から12月にかけて、西日本地区の病院のNICUに入院する新生児（7名）から分離された7株のMRSAを解析に用いた。なお、患児7名の内、4名がSSSSを発症していた。比較対象として、2001年および2002年に同施設の他入院施設（母E、母W）から分離されたMRSA（2001年分離8株、2002年分離9株）およびMSSA（2001年分離5株）を解析に用いた。

パルスフィールド電気泳動：パルスフィールド電気泳動(PFGE)は常法に従って行った。MRSAをMH培地で一晩培養した後、菌体を回収し、プラグを作製した。プラグはlysostaphinおよびproteinase K処理を行った後、DNAを制限酵素SmaIにより切断し、1%アガロースゲルにより分離した。泳動装置にはCHEF DR II (Bio-Rad)を用いた。

系統樹解析：系統樹解析はPFGE分析の泳動像をもとに、Diversity Databaseソフトウェア(PDI)を用いてUPGAMA法により行った。

(倫理面への配慮)

本研究では、患児の固有名称などの情報は扱わず、分離菌株についての解析であり、しかもヒト由来の臨床材料も使用しないため、倫理上特段の問題点は発生しないと判断された。また、本研究内容およびその結果を厚生労働省への研究報告書に盛り込む件については、病院名を臥

せるなどの配慮をすることを条件に、担当部長、および院内感染対策委員長の了解を得た。

C. 研究結果および考察

制限酵素SmaIによるPFGE解析により、2002年に分離された16株のMRSAは4種類の泳動パターン(D1, D2, D3, E1)を示し、NICU入院新生児から分離された7株はD1およびD3のパターンを示した(図1)。SSSSを発症した患児から分離された4株のMRSAはそれぞれ2株がD1, D3パターンを示し、遺伝子型とSSSS発症との間に相関は認められなかった(表1)。また、2002年に2カ所の他入院施設から分離されたMRSAはD1, D2, D3, E1のパターンを示した。泳動パターンをもとに系統樹解析を行ったところD1, D2, D3の泳動パターンを示すMRSAの遺伝的相関性は90%以上と高く、これらの菌株は起原を同じくするMRSAであると判断された(図2)。同様に2001年に分離されたMSSA(C1, C2, C3)も、その遺伝的相関性は89%と計算され、起原を同じくする菌株と判断された。以上の結果から、同医療施設では遺伝的に異なる4種のMRSA(A, B, D, E)と1種のMSSA(C)が保菌または感染していたことが示された。

2001年と2002年に分離されたMRSAの遺伝子型を比較したところ、これらの菌株の遺伝的相関性は35%と低く、2001年と2002年に分離されたMRSAは遺伝的に異なった菌株であると考えられた(図2)。遺伝子型からみたMRSAの発生状況を解析したところ、2002年に分離された16株のMRSAはDタイプが15株、Eタイプが1株であった(図3A)。このDタイプの分離状況を入院施設別に検討したところ、DタイプのMRSAは2002年9月に入院施設(母E)で蔓延した後、その後NICUおよび他の入院施設(母W)に持ち込まれたものと考えられた(図3B)。

D. 総合考察

本研究は、NICUで認められたMRSA感染事例

を分子疫学的に解析することを目的に行った。その結果、NICUで分離されたMRSAは全て同一の遺伝子型に分類されることが判明し、院内で患者間で伝播・拡散し感染が拡大した可能性が強く疑われた。また同医療施設の他の病棟で分離されたMRSAも同じ遺伝子型を示したことから、本施設ではNICUのみならず他の病棟を含めた医療施設全体に同じ遺伝子型のMRSA株が広く定着していた可能性が強く示唆された。伝播経路について検討を加えたところ、NICUで分離されたMRSAは、同医療施設の病棟(母E)から持ち込まれ、さらに他の入院施設(母W)にも同時に伝播した可能性が示唆された。

院内感染対策には感染源の特定と除去及び伝播の遮断が必須である。同医療施設では、分離株の遺伝子パターンの詳細な解析を当方に「研究」として依頼し、その結果、他病棟からNICUにMRSAが伝播侵入した可能性が強く示唆されたことから、通常の日常的な院内感染対策に加え、他病棟からのMRSAの侵入を遮断するさらなる対策を追加実施した。その結果、NICUにおけるMRSA感染児の新たな発生の防止に成功しており、この経験は、他の同様な新生児治療施設における対策を向上させる上で有用な示唆を与えるものと考えられる。

E. 結論

2002年に西日本地域の病院のNICUで発生した新生児MRSA感染事例を分子疫学的手法を用いて解析した。患児から分離されたMRSAの遺伝子型を解析した結果、本感染事例はNICUのみならず他病棟からも分離され、NICUに他病棟から持ち込まれて拡散したものである事が強く示唆された為、それに基づいた対策を実施し、あらたなMRSAの侵入の阻止に成功している。この

経験は、他の同様な新生児治療施設におけるMRSA対策に重要な示唆を与える。

F. 健康危険情報

SSSSの原因となる黄色ブドウ球菌は、エキソフォリアチンと呼ばれる毒素を産生する。しかし、本毒素を産生する株はこれまでメチシリンに感受性を示すいわゆるMSSAが主体であるとされ、MRSAは希であったため、SSSSは適切な抗菌薬の投与により治療は比較的容易とされてきた。しかし、今回の事例で明らかになったように、MRSAによるSSSSの発生も今後増加する危険性が高いと考えられる。その場合、不適切な抗菌薬治療と不十分な接触感染予防策等の実施とにより、逆にエキソフォリアチンを産生するMRSAによる施設内の広範な汚染とSSSS患児の増加を増長する恐れがあり、特に新生児や未熟児等感染防御能力の十分発達していない児を対象とする施設では、本菌に対し警戒が必要と考えられ、その施設へのMRSAの侵入や蔓延を防止する対策が重要となっている。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

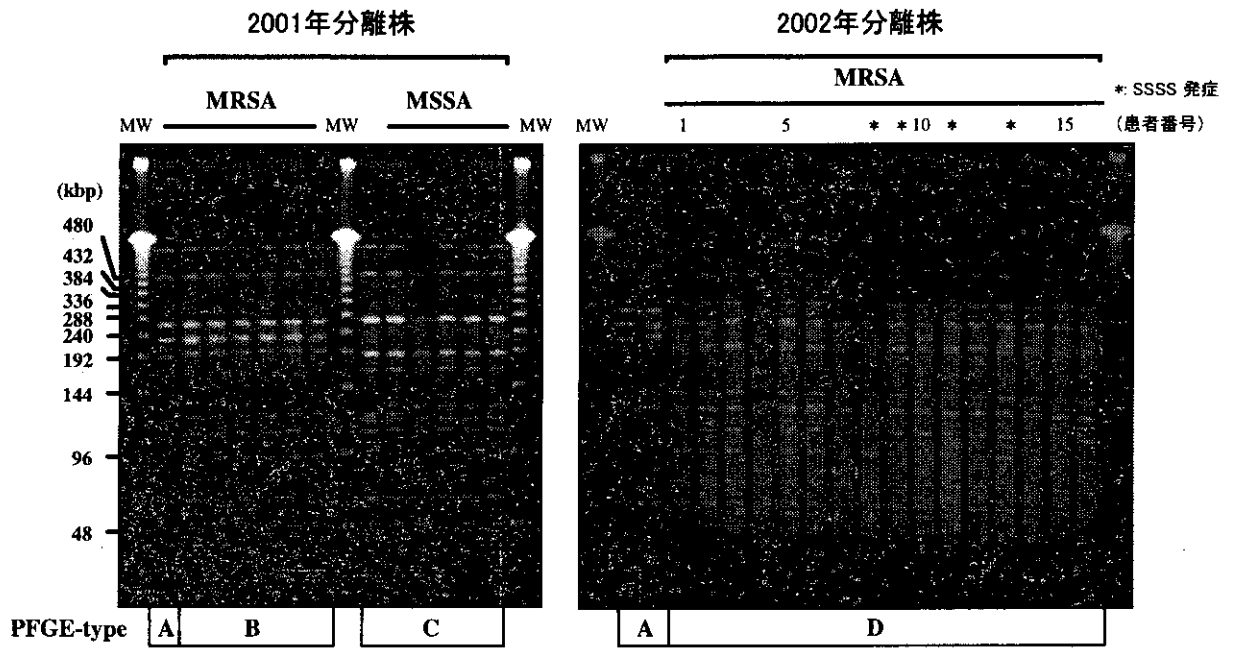


図1 2001年と2002年に分離されたMRSAおよびMSSAのPFGEパターン

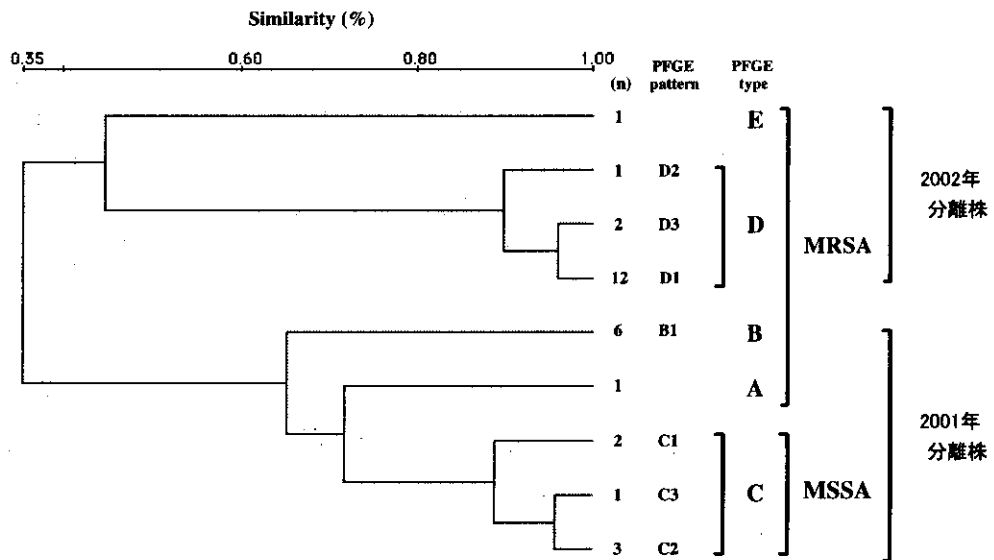


図2 2001年と2002年に分離されたMRSAおよびMSSAの系統樹解析

Table 1 2002年に分離されたMRSAの遺伝子型

患者	出生日	菌分離日	SSSSの発症	入院棟	PFGE type
1	8月24日	9月2日		母E	D (D1)
2	9月8日	9月12日		母E	D (D1)
3	9月4日	9月18日		母E	D (D1)
4	7月9日	9月19日		母W	E (E1)
5	9月8日	10月8日	-	NICU	D (D1)
6	9月20日	10月9日		母W	D (D2)
7	9月29日	10月11日	-	NICU	D (D1)
8	10月10日	10月15日	+	NICU	D (D3)
9	10月10日	10月15日	+	NICU	D (D1)
10	9月30日	10月28日	-	NICU	D (D1)
11	10月31日	11月5日	+	NICU	D (D1)
12	10月29日	11月5日		母E	D (D1)
13	10月14日	11月12日	+	NICU	D (D3)
14	11月3日	11月21日		母W	D (D1)
15	11月21日	12月2日		母W	D (D1)
16	11月27日	12月2日		母W	D (D1)

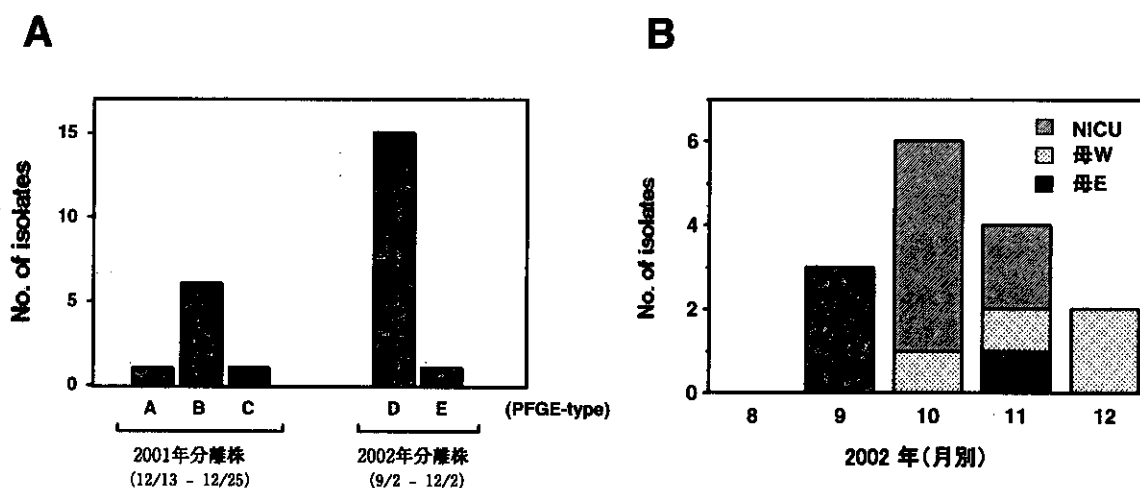


図3 タイプDの遺伝子型を持つMRSAの年度別および施設別分離菌株数
 (A) 2001年と2002年におけるタイプDの分離菌株数
 (B) NICUと同施設他病棟でのタイプDの月別分離菌株数

院内感染予防のための対策項目の予備的な抽出

分担研究者 宮澤廣文 国立国際医療センター新生児科 部長

研究要旨

パルスフィールド法を用いた未熟児室の MRSA 流行時の病院疫学的解析およびその対策について検討を加えた。

A. 研究目的

MRSA 流行時に病院内 MRSA 株と未熟児室 MRSA 株についてパルスフィールド法を行い株のルーツについて検討し、その流行予防対策に役立てることを目的とした。

B. 研究方法

未熟児室の規模および分娩数

当院未熟児室の規模およびスタッフは未熟児 7 床分、看護体制は日勤 2 - 3 人、夜間 1 人で経過を見ている。未熟児専門医は 4 - 5 人で、あとはスーパーロテイトのレジデントで管理されている。7 床の管理新生児の内容は 5 床分の呼吸管理ができ、超低出生体重児から一般新生児内科的疾患までを管理している。

新生児管理は産科病棟に新生児室があり、低出生体重児 2100-2500g、黄疸等の軽症の新生児はここで管理されている。一般新生児のはじめ 24 時間も新生児室で管理されその後 2 日目から母児同室となり褥婦ケア病棟で管理されている。

分娩状況は 1 年間の分娩数は 500-600 件程度である。主に母胎搬送を受け付けている。

C. 研究結果

当センター未熟児室でのスクリーニングと MRSA 出現率の変動経過

未熟児室の MRSA 出現頻度を図 1 に示すした。

2002 年は 7 月 8 月、9 月に小規模な MRSA 流行が見られた。

2001 年の流行時とおなじく産科病棟でも MRSA の流行が見られた。

昨年 2001 年はパルスフィールドでは A4 のタイプが産科病棟、未熟児室にわたって流行、その株は病院で今まで存在した株でなかったことが判明した。

2002 年の小流行の株は A4、A3、A9 がみられ、未熟児室で院内感染と思われた 1 名からは A4、A9 両株が検出された。

図1. 2002年 8, 9月の未熟児室のMRSA (パルスフィールド含む)

患者 No	検査場所	PFGE	エンテロトキシン	TSST-1	コアグララーゼ
1	胃チューブ	A9	C	+	II
1	因頭	A9	C	+	II
1	便	A9	C	+	II
2	胃チューブ	A4	C	+	II
2	皮膚(臍)	A4	C	+	II
3	鼻腔	A3	C	+	II
3	気道内分泌	A3	C	+	II
4	皮膚(臍)	A4	C	+	II
4	眼脂	A9	C	+	II

D. 考察

前年報告したと同様 PFGE による株の解析は感染経路を分析できその感染予防に有効であった。2002年の未熟児室のMRSAの小流行でも院内でも2001年ごろに院内に定着化したA9,A3が検出されており、ヘルシーキャリアとして問題である研修医のスーパーロテイトシステム、学生の実習システムの感染予防教育に、その対策を盛り込んだ。MRSAは病院内定着株のみでなく新しい株が入院患者とともに持ち込まれそれが流行、定着するというパターンは少なくない。その対策の1つとして入院時のMRSAのルーチンスクリーニングも考慮する必要がある。

新生児室におけるMRSAの対策はそのベット数が多ければ多いほどその対策には困難を要する。その対策はベット面積を多くとる、過酷な業務の改善等、基本条件

ですぐに解決つかない問題もかかえている。接触感染対策は手洗いを始め多方面から検討はなされている。また健康保菌者の対策も当院では未熟児入室者全員にサージカルマスクをつけるよう指導し、リネンのほこりによる咽頭及び鼻腔のMRSAの定着と無意識に手を口および鼻へ持っていくという行動の回避を行っている。

幸いにも流行は沈静化した保菌状態の新生児が早く退院できたことによるものである。保菌者の長期滞在と院内感染は関係があることは事実で、今後長期入院保菌者をどのように管理するかについての検討を行いたい。

細菌側の毒性についても検討の余地があり今後さらに検討していく予定である。

(参考文献参照)

E. 結論

MRSA流行時の疫学解析にはパルスフィ

ールド法を用いた遺伝子型解析が有用であった。

F. 研究発表

Miyo Nakano, Hirofumi Miyazawa, Yasushi Kawano, Mika Kawagishi, Kezo Torii, Tadao Hasegawa, Yoshitsugu Inuma, and Michio

Ohta. 2002. YAn Outbreak of Neonatal Toxic Shock Syndrome-Like Exanthematous Disease(NTED)Caoused by Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in a Neonatal Intensive Care Unit. Microbiol. Immunol.46(4),277-284

厚生労働科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）
分担研究報告書

NICU における SSSS 院内感染の原因となった MRSA 株に関する疫学的研究

分担研究者 太田 美智男 名古屋大学医学系研究科教授

研究要旨

最近 NICU ならびに小児科病棟における SSSS 院内感染の原因となった特殊な MRSA 株について解析した。これらの菌株は全て表皮剥離毒素 ETB を大量に分泌した。大阪と愛知両県における NICU 院内感染ならびに散発例の株の DNA タイプは全く同一であり、特定の菌株が広がっていることが示された。

A. 研究目的

NICU において、最近新しいタイプの MRSA による院内感染が発生している。患者は黄色ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群 (staphylococcal scaled skin syndrome, SSSS) を発症し、新生児において時に重症化する。それらの MRSA 株の性質を疫学的に解析することを目的とする。

B. 研究方法

NICU ならびに小児科病棟における SSSS の集団感染を起こした MRSA 株および、散発例としてみられた MRSA による SSSS の症例から分離された株について、染色体 DNA パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)、薬剤感受性、毒素産生パターン、PCR による毒素遺伝子の検出などの方法を用いて解析した。

C. 研究結果

調べた全ての MRSA 株は *mecA* 遺伝子を

保有していた。SSSS 患者由来 MRSA 株は院内感染株ならびに散発例の株全て ETB 型の表皮剥離毒素遺伝子を持っていた。ETA 型毒素は検出されなかった。大阪ならびに愛知の院内感染株と散発例 1 株は oxacillin に軽度耐性を示した。PFGE 解析によれば大阪株、愛知株、散発例 1 株のパターンは全く区別ができなかった。このことは特定の MRSA 菌株が広い地域に蔓延していることを物語っている。菌体外分泌蛋白の 2 次元電気泳動解析によればこの株は大量の ETB 毒素蛋白を分泌していた。他のスーパー抗原毒素の発現はそれほど顕著ではなかった。さらにこの MRSA 株は oxacillin ディスクに対して大きな阻止円 (>35mm) を形成し、一見すると MRSA とは判定できなかった。微量液体希釈法によれば MRSA と判定可能であった。なお調べた全ての MRSA 株が *MecA* 蛋白を発現していた。

D. 考察