

eta, *ETB*; *etb*); and TSST-1 (*tst*) were detected using a multiplex PCR system as previously described (3, 19). The *PVL* gene was detected by PCR assay described by Lina et al. (23).

Typing of SCCmec. SCCmec typing was performed by amplification of regions within SCCmec, the *ccr* region (three classes of *ccr*), and the *mec* region (IS1272, *mecI-RI*, *mecA*) as described by Ito et al. (16, 17) and Ma et al. (24). CO-MRSA strains of SCCmec type II or IV were subtyped (IIa, IIb) (IVa, IVb, IVc) as reported previously (T. Ito, X.X. Ma, Y. Kondo, P. Changtrakool, S. Traklsomboon, C. Tiensasitorn, M. Jamklang, T. Chavalit, J. Song, and K. Hiramatsu, Abstr. 44th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother., abstr. 115, 2004). Control strains of each SCCmec type were provided by Drs. Robert S. Daum and T. Ito (9, 16, 17).

Multi-locus sequence typing (MLST). MLST was performed as described elsewhere (11). The allelic profiles of MRSA isolates were assigned on the basis of their MLST type using the eBURST program (13) (<http://eburst.mlst.net>).

Statistical analysis. To compare differences between groups, Student's *t* test was used for continuous variables, while Fisher's exact test was used for dichotomous variables. All analyses were two-tailed and *P* values of less than 0.05 were considered significant. Statistical analysis was performed with StatView version 5.0 software (Abacus Concepts, Inc., Berkeley, Calif., U.S.A.).

Results

Patient Characteristics

Of the 200 patients with MRSA strains during the study, 28 cases were excluded on the basis of duplicate isolates or misclassification of methicillin-susceptible strains. A total of 172 cases, including 98 inpatients with HA-MRSA, 61 outpatients with HA-MRSA, and 13 patients with CO-MRSA, were subjected to further analysis. Table 1 describes the characteristics of patients and specimens in the study. The age distribution of both inpatients and outpatients with HA-MRSA strains was significantly higher than that of patients with CO-MRSA. There were no patients over 60 years old with CO-MRSA. Sixty-two percent (8 of 13) of CO-MRSA strains were isolated from skin sources while sputum (29 of 98; 30%) was the major source of HA-MRSA strains in inpatients. Otorrhea (19 of 61; 31.1%) was the major source of specimens for outpatients. Forty-six percent (6 of 13) of patients with CO-MRSA were seen by the dermatology department, while inpatients with HA-MRSA were followed by the

surgery (43 of 98; 44%) and the medicine (26 of 98; 27%) departments. Outpatients with HA-MRSA strains were seen mainly in the otolaryngology department (21 of 61; 34.4%).

Resistant Profile

Table 2 demonstrates the 9 resistant profiles, excluding β -lactams, of HA-MRSA and CO-MRSA strains. Most HA-MRSA strains from inpatients and outpatients were uniformly MDR. The resistant rate of CO-MRSA strains for ERY, CLI, TET, LVX, and SPT was significantly lower than that of HA-MRSA strains. However, GEN resistance was seen more frequently in CO-MRSA than in HA-MRSA strains. No resistance to SXT, VAN and TEC was seen in the CO-MRSA and the HA-MRSA strains recovered during the study.

Genotypes and Phenotypes of MRSA Strains

Table 3 shows genotypic and phenotypic characteristics of 172 MRSA strains evaluated in the prospective study conducted at TWMUH. The PFGE patterns of the MRSA strains revealed one major clone, clone A (145 of 172; 84%) with 51 subtypes (A1 to A51), three minor clones, clone B (8 of 172; 5%) with 7 subtypes (B1 to B7), clone C (5 of 172; 3%) with 4 subtypes (C1 to C4), clone D (3 of 172; 2%) with 3 subtypes (D1 to D3), and 11 unique clones (E to O). Most clone A strains were SCCmec type II (141 of 145; 97%), possessed *tst* or *sec* (136 of 145; 94%), coagulase type II (138 of 145; 95%), and MDR (143 of 145; 99%). Clone A was the most prevalent clone in HA-MRSA from both inpatients (89 of 98; 91%) as well as outpatients (53 of 61; 87%), and was significantly less frequently seen in CO-MRSA strains (3 of 13; 23%). Clone B strains were only isolated from HA-MRSA in outpatients or from CO-MRSA, belonged to coagulase type I and exhibited no MDR. SCCmec type IV (6 of 8; 75%) or *etb* (5 of 8; 63%) was frequently seen in clone B strains, although two strains belonged to SCCmec type II. Clone C strains belonged to coagulase type II, were MDR possessed *tst* and *sec* similar to clone A although the SCCmec type was non-typeable in two strains. Clone D strains were coagulase type III and were not MDR, but interestingly two of the three strains possessed *tst* and *sec*. This clone was not isolated from HA-MRSA in inpatients. All of the SCCmec type IV isolates including three HA-MRSA strains exhibited no MDR. Among inpatients and outpatients, Table 4 summarizes the correlation of genotypic or phenotypic characteristics between HA-MRSA and CO-MRSA strains. SCCmec type IV was more frequently distributed in CO-MRSA strains (9 of 13; 69%) than in HA-MRSA strains among inpatients (1 of 98; 1%) and in

Table 1. Demographic characteristics of patients and sources of specimens

Characteristics	Age distribution or number (%) of patients with							CO-MRSA isolates (n=13)
	HA-MRSA isolates from							
	Inpatients (n=98)		Outpatients (n=61)		Total (n=159)			
	P value ^{a)}	P value ^{b)}		P value ^{a)}		P value ^{a)}		
Age								
Median, year	56			58		56		19
Range, year	0-92			0-88		0-92		1-53
Mean±SD, year	47.0±28.8	0.002	NS	48.7±24.4	0.0002	47.6±27.1	0.002	20.8±18.9
0-5	18 (18)	NS ^{c)}	NS	6 (10)	NS	24 (15)	NS	4 (31)
6-12	1 (1)	NS	NS	1 (2)	NS	2 (1)	NS	1 (8)
13-17	1 (1)	NS	NS	1 (2)	NS	2 (1)	NS	1 (8)
18-59	33 (34)	NS	NS	25 (41)	NS	58 (37)	NS	7 (54)
≥60	45 (46)	0.004	NS	28 (46)	0.005	73 (46)	0.003	0 (0)
Gender								
Male	63 (64)	NS	NS	33 (54)	NS	96 (60)	NS	9 (69)
Source of specimen								
Skin, soft tissue	16 (16)	0.01	NS	16 (26)	0.02	32 (20)	0.02	8 (62)
Discharge of eyes	6 (6)	NS	NS	3 (5)	NS	9 (6)	NS	2 (15)
Otorrhea	2 (2)	NS	<0.0001	19 (31)	NS	21 (13)	NS	1 (8)
Nose	10 (10)	NS	NS	8 (13)	NS	18 (11)	NS	0 (0)
Oropharynx	11 (11)	NS	NS	3 (5)	NS	14 (9)	NS	0 (0)
Tonsil	0 (0)	0.01	NS	0 (0)	0.03	0 (0)	0.0003	2 (15)
Sputum, BAL ^{d)} fluid	29 (30)	0.02	<0.0001	3 (5)	NS	32 (20)	NS	0 (0)
Pleural fluid/ascites	1 (1)	NS	NS	0 (0)	NS	1 (1)	NS	0 (0)
Wound pus, deep	13 (13)	NS	NS	6 (10)	NS	19 (12)	NS	0 (0)
Blood	1 (1)	NS	NS	0 (0)	NS	1 (1)	NS	0 (0)
Urine	8 (8)	NS	NS	2 (3)	NS	10 (6)	NS	0 (0)
Feces	1 (1)	NS	NS	0 (0)	NS	1 (1)	NS	0 (0)
Breast milk	0 (0)	NS	NS	1 (2)	NS	1 (1)	NS	0 (0)
Clinic								
Medicine	26 (27)	0.04	NS	13 (21)	NS	39 (25)	0.04	0 (0)
Surgery	43 (44)	0.01	0.01	14 (23)	NS	57 (36)	NS	1 (8)
Pediatrics	9 (9)	NS	NS	8 (13)	NS	17 (11)	NS	1 (8)
Emergency	5 (5)	NS	NS	0 (0)	NS	5 (3)	NS	0 (0)
Otolaryngology	5 (5)	NS	<0.0001	21 (34)	NS	26 (16)	NS	3 (23)
Ophthalmology	4 (4)	NS	NS	3 (5)	NS	7 (4)	NS	2 (15)
Dermatology	2 (2)	<0.0001	NS	2 (3)	0.0002	4 (3)	<0.0001	6 (46)
Gynecology and Obstetrics	2 (2)	NS	NS	0 (0)	NS	2 (1)	NS	0 (0)
Psychiatry	2 (2)	NS	NS	0 (0)	NS	2 (1)	NS	0 (0)

^{a)} P value, vs. CO-MRSA.

^{b)} P value, vs. HA-MRSA from outpatients.

^{c)} NS, not significant.

^{d)} BAL, broncho-alveolar lavage.

outpatients (2 of 61; 3%). No SCCmec type III and type V strains were seen in any MRSA strains. Toxin gene profiles revealed that *sec* and *tst* was more predominant in HA-MRSA strains from inpatients (90 of 98; 92%, 88 of 98; 90%) and outpatients (49 of 61; 80%, 52 of 61; 85%) than in CO-MRSA strains (4 of 13; 31%, 5 of 13; 39%). In contrast, the presence of *etb* was more likely in CO-MRSA strains (4 of 13; 31%)

than in HA-MRSA (inpatient 0 of 98; 0%, outpatient 1 of 61; 2%, total 1 of 159; 1%). No *pvl* genes were found in any MRSA. Coagulase typing showed that most HA-MRSA strains belonged to type II (inpatient 94 of 98; 96%, outpatient 49 of 61; 80.3%, total 143 of 159; 89.9%), and CO-MRSA were distributed into 5 type I, 4 type II, 2 type III and type VII, and non-typeable strains. PFGE clone A-coagulase type II-*tst*

Table 2. Resistant profiles of MRSA strains

Antimicrobial agent	Number (%) resistant							CO-MRSA isolates (n=13)
	HA-MRSA isolates from				Total (n=159)			
	Inpatients (n=98)		Outpatients (n=61)					
	<i>P</i> value ^{a)}	<i>P</i> value ^{b)}		<i>P</i> value ^{a)}		<i>P</i> value ^{a)}		
GEN	40 (41)	0.02	NS	24 (39)	0.02	64 (40)	0.02	10 (77)
ERY	97 (99)	0.0006	NS	57 (93)	0.03	154 (97)	0.002	9 (69)
CLI	88 (90)	<0.0001	NS	52 (85)	0.0002	140 (88)	<0.0001	4 (31)
TET	73 (74)	0.003	NS	48 (79)	0.001	121 (76)	0.001	4 (31)
LVX	91 (93)	<0.0001	NS	56 (92)	<0.0001	147 (92)	<0.0001	4 (31)
SPT	97 (99)	<0.0001	NS	58 (95)	<0.0001	155 (97)	<0.0001	5 (38)
SXT	0 (0)	NS ^{c)}	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)
VAN	0 (0)	NS	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)
TEC	0 (0)	NS	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)

^{a)} *P* value, vs. CO-MRSA.

^{b)} *P* value, vs. HA-MRSA from outpatients.

^{c)} NS, not significant.

and *sec* positive-coagulase type II-MDR strains were predominant in HA-MRSA from inpatients (81 of 98; 83%) and outpatients (43 of 61; 71%), as compared in CO-MRSA (1 of 13; 8%).

Properties of CO-MRSA Isolates and the Clinical Backgrounds

Table 5 summarizes genetic and phenotypic properties of CO-MRSA isolates as well as the clinical backgrounds. Clinically, 8 of 13 (62%) patients with CO-MRSA were diagnosed as skin infections including 3 superficial skin infections and 5 impetigo cases. No mortality was associated with infections due to CO-MRSA. Thirteen CO-MRSA strains were divided into 8 resistant profiles, 5 coagulase types, 5 toxin patterns, 2 *SCCmec* types with 3 subtypes, 12 different PFGE patterns (Fig. 1) including 3 clones A, 5 clones B, 2 clones D and 3 unique clones, and 7 sequence types with 4 clonal complexes (CC) types in MLST. Three strains belonged to MLST ST5-*SCCmec* type II, subtype IIa-PFGE clone A, coagulase type II and were MDR. These strains were closely related to major clones of HA-MRSA strains which shared *SCCmec* type II, coagulase type II, and MDR. As shown in Fig. 1, the PFGE patterns of 3 CO-MRSA strains were similar to that of HA-MRSA strain TWCC8395 (PFGE A11). These PFGE type A strains and TWCC8395 also belonged to MLST type ST5. The HA-MRSA strains with PFGE type A1 to A5 also belonged to ST5 (data not shown). TWCC8366 belonged to MLST ST5-*SCCmec* type IIa and coagulase type II which, while similar to TWCC8202, TWCC8254, and TWCC8290, was resistant only to ERY and SPT and showed a different PFGE pattern (unique L). All ST5-*SCCmec* IIa CO-MRSA strains showed high-level resistance to MET

and OXA (MIC: >256 µg/ml). The remaining 9 strains belonged to *SCCmec* type IV and were moderately resistant to MET and OXA with a MIC range of 12–48 and 8–64 µg/ml, respectively. Five of nine *SCCmec* type IV CO-MRSA strains belonged to type IVa, but the remaining four strains did not amplify with primers for either a, b, or c types of the J1 region. Five *SCCmec* type IVa strains were characterized as demonstrating closely related PFGE patterns (clone B) and belonging to CC509 (3 ST91, ST89, ST379), and coagulase type I. These strains were resistant to only GEN or ERY except for one strain, TWCC8422, which was also resistant to SPT and possessed the *etb* genes except for one strain, TWCC8435. Three *SCCmec* type IVa strains possessing *etb* were isolated from impetigo cases. Four other *SCCmec* type IV, non-subtype IVa, IVb, IVc strains belonged to the following CC types: CC1 (ST1, ST81) and two CC8 (ST8). Two CC1 strains showed different resistant profiles (one MDR and the other no), PFGE types, and coagulase types consistent with independent clones. While, two CC8 (ST8) belonged to coagulase type III, exhibited closely related PFGE patterns, and were non-MDR. Both strains also had *tst* and *sec* genes and were isolated from impetigo patients, but did not have *etb* or *eta* genes. Three clone B (one ST91, two ST89-CC509, coagulase type I) and one clone D (ST8, CC8, coagulase III, *SCCmec* type IV) were also isolated from HA-MRSA, but 2 ST89-clone B (TWCC8081, TWCC8472) and clone D (TWCC8414) strains belonged to *SCCmec* type II, not type IV (data not shown).

Discussion

To our knowledge, this is the first prospective molec-

Table 3. Genotypic and phenotypic characterization of 172 MRSA strains

PFGE		SCC _{mec}	Toxin gene	Coagulase type	MDR ^(a)	Number of strains				
Type	Subtype					HA-MRSA from			CO-MRSA	Total
						Inpatients	Outpatients	Total		
A	A1	II	<i>tst, sec</i>	I	Y		1	1		1
	A1	II	<i>tst</i>	II	Y				1	1
	A1	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	16	9	25		25
	A1	II	<i>tst, sec</i>	V	Y		1	1		1
	A2	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	6	2	8		8
	A2	II	<i>tst, seb, sec</i>	II	Y	3	1	4		4
	A2	II	<i>tst, seb, sec</i>	NT ^(b)	Y	1		1		1
	A3	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	6	5	11		11
	A4	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	4	2	6	1	7
	A4	II	<i>tst, sec</i>	V	Y		1	1		1
	A5	II	<i>sec</i>	II	Y	1		1		1
	A5	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	5	1	6		6
	A5	II	<i>tst, sec</i>	IV	Y	1		1		1
	A6	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	4	1	5		5
	A6	II	<i>tst, sec</i>	V	Y		1	1		1
	A7	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	3		3		3
	A7	II	<i>tst, seb, sec</i>	II	Y		1	1		1
	A8	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	4		4		4
	A9	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	2	2	4		4
	A10	II	<i>tst</i>	II	Y		1	1		1
	A10	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1	1	2		2
	A10	NT	<i>tst</i>	II	Y		1	1		1
	A11	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	2	1	3		3
	A12	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	3		3		3
	A13	II	<i>tst, seb, sec</i>	II	Y	3		3		3
	A14	II	none	II	Y	2	1	3		3
	A15	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1	1	2		2
	A16	II	none	II	Y	1		1		1
	A16	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
	A17	II	<i>tst, sea, sec</i>	II	Y	2		2		2
	A18	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1	1	2		2
	A19	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1	1	2		2
	A20	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1	1	2		2
	A21	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
	A22	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
	A23	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
	A24	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
	A25	II	<i>tst, seb, sec</i>	II	Y	1		1		1
	A26	II	none	II	Y	1		1		1
	A27	II	none	II	Y		1	1		1
	A28	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1		1
	A29	II	none	II	Y		1	1		1
	A30	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1		1
	A31	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
	A32	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1		1
	A33	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1		1
	A34	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1		1
	A35	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
	A36	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1		1
	A37	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1		1
	A38	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
	A39	II	none	II	Y				1	1
	A40	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1		1
	A41	I	<i>seb</i>	II	N	1		1		1

Table 3. continued

PFGE		SCC _{mec}	Toxin gene	Coagulase type	MDR ^{a)}	Number of strains				
Type	Subtype					HA-MRSA from			CO-MRSA	Total
						Inpatients	Outpatients	Total		
A	A42	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1	1	
	A43	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1	1	
	A44	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1	1	
	A45	NT ^{b)}	<i>tst, sec</i>	V	N		1	1	1	
	A46	NT	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1	1	
	A47	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1	1	
	A48	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1	1	
	A49	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1	1	
	A50	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1	1	
	A51	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1	1	
	Total					89	53	142	3	145
B	B1	IV	<i>etb</i>	I	N				1	1
	B2	IV	<i>etb</i>	I	N				1	1
	B2	IV	none	I	N				1	1
	B3	IV	<i>etb</i>	I	N				1	1
	B4	IV	<i>etb</i>	I	N				1	1
	B5	II	<i>etb</i>	I	N		1	1		1
	B6	II	none	I	N		1	1		1
	B7	IV	none	I	N		1	1		1
	Total					0	3	3	5	8
C	C1	II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1		1
	C1	NT	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
	C2	NT	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
	C3	II	<i>tst, seb, sec</i>	II	Y	1		1		1
	C4	II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
	Total					4	1	5	0	5
D	D1	IV	<i>tst, sec</i>	III	N				1	1
	D2	II	none	III	N		1	1		1
	D3	IV	<i>tst, sec</i>	III	N				1	1
	Total					0	1	1	2	3
Unique										
E		I	none	III	Y	1		1		1
F		II	<i>tst, sec</i>	II	Y	1		1		1
G		IV	none	III	N		1	1		1
H		IV	<i>sea</i>	VII	N				1	1
I		IV	none	NT	Y				1	1
J		II	none	II	Y	1		1		1
K		II	none	III	Y		1	1		1
L		II	<i>tst, sec</i>	II	N				1	1
M		I	none	II	N	1		1		1
N		II	<i>tst, sec</i>	II	Y		1	1		1
O		IV	<i>sec</i>	VII	N	1		1		1
	Total					5	3	8	3	11
Total						98	61	159	13	172

^{a)} MDR, multi-drug resistance, Y: yes, N: no.

^{b)} NT, non-typeable.

ular epidemiological study of CO-MRSA and HA-MRSA in a Japanese hospital. Overall, patients with CO-MRSA were significantly younger than those with HA-MRSA and seen mainly in the dermatology service. A previous study reported results similar to our study with respect to age distribution, and clinical fea-

tures in patients with CO-MRSA infection (4–6, 10, 26, 32, 34, 43). Our study found CO-MRSA strains to be more susceptible to antimicrobials other than β -lactam classes except GEN. Furthermore, SCC_{mec} type IV, recently described in other CO-MRSA isolates, predominated in our CO-MRSA strains. These bacterial

Table 4. Comparison of genotype and phenotype distribution in HA-MRSA and CO-MRSA strains

Characteristics	Number of positive (%) in							
	HA-MRSA isolates from							CO-MRSA isolates (n=13)
	Inpatients (n=98)		Outpatients (n=61)		Total (n=159)			
	<i>P</i> value ^{a)}	<i>P</i> value ^{b)}	<i>P</i> value ^{a)}	<i>P</i> value ^{a)}	<i>P</i> value ^{a)}			
<i>SCCmec</i>								
I	3 (3)	NS ^{c)}	NS	0 (0)	NS	3 (2)	NS	0 (0)
II	91 (93)	<0.0001	NS	55 (90)	<0.0001	146 (92)	<0.0001	4 (31)
III	0 (0)	NS	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)
IV	1 (1)	<0.0001	NS	2 (3)	<0.0001	3 (2)	<0.0001	9 (69)
V	0 (0)	NS	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)
NT ^{d)}	3 (3)	NS	NS	4 (7)	NS	7 (4)	NS	0 (0)
<i>PFGE</i>								
Clone A	89 (91)	<0.0001	NS	53 (87)	<0.0001	142 (89)	<0.0001	3 (23)
Clone B	0 (0)	<0.0001	NS	3 (5)	0.003	3 (2)	<0.0001	5 (39)
Clone C	4 (4)	NS	NS	1 (2)	NS	5 (3)	NS	0 (0)
Clone D	0 (0)	0.013	NS	1 (2)	NS	1 (1)	0.02	2 (15)
Unique clone	5 (5)	NS	NS	3 (5)	NS	8 (5)	0.04	3 (23)
<i>Toxin gene</i>								
<i>eta</i>	0 (0)	NS	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)
<i>etb</i>	0 (0)	0.0001	NS	1 (2)	0.003	1 (1)	<0.0001	4 (31)
<i>sea</i>	2 (2)	NS	NS	0 (0)	NS	2 (1)	NS	1 (8)
<i>seb</i>	10 (10)	NS	NS	2 (3)	NS	12 (8)	NS	0 (0)
<i>sec</i>	90 (92)	<0.0001	0.05	49 (80)	0.0009	139 (87)	<0.0001	4 (31)
<i>sed</i>	0 (0)	NS	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)
<i>see</i>	0 (0)	NS	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)
<i>tst</i>	88 (90)	<0.0001	NS	52 (85)	0.001	140 (88)	0.0001	5 (39)
<i>pvl</i>	0 (0)	NS	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)
none	7 (7)	NS	NS	8 (13)	NS	15 (9)	NS	3 (23)
<i>Coagulase type</i>								
I	0 (0)	<0.0001	0.02	4 (7)	0.007	4 (3)	0.0001	5 (39)
II	94 (96)	<0.0001	0.02	49 (80)	0.0009	143 (90)	<0.0001	4 (31)
III	1 (1)	0.04	NS	3 (5)	NS	4 (3)	NS	2 (15)
IV	1 (1)	NS	NS	0 (0)	NS	1 (1)	NS	0 (0)
V	0 (0)	NS	0.008	5 (8)	NS	5 (3)	NS	0 (0)
VI	0 (0)	NS	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)
VII	1 (1)	NS	NS	0 (0)	NS	1 (1)	NS	1 (8)
NT	1 (1)	NS	NS	0 (0)	NS	1 (1)	NS	1 (8)
Multi-drug resistance (MDR)	95 (97)	<0.0001	NS	55 (90)	<0.0001	150 (94)	<0.0001	4 (31)
Clone A: <i>SCCmec</i> II: <i>sec+tst</i> : coagulase II: MDR strains	81 (83)	<0.0001	NS	43 (71)	<0.0001	124 (78)	<0.0001	1 (8)

^{a)} *P* value, vs. CO-MRSA.

^{b)} *P* value, vs. HA-MRSA from outpatients.

^{c)} NS, not significant.

^{d)} NT, non-typeable.

features were also similar to previous reports (4–6, 22, 26, 28, 30, 32, 42, 43). However, in our study, we found no CO-MRSA strains harboring *pvl* genes which have been reported predominantly in CO-MRSA strains from skin or soft tissue infections as well as, necrotizing pneumonia outside of Japan (10, 22, 26, 30, 42, 43). Vandenesch et al. reported that all 117 CO-MRSA isolates collected from countries in three continents including the United States, Australia, France, and Switzerland carried *pvl* genes and belonged to *SCCmec*

type IV (42). It has been suggested that the *pvl* genes may be a good marker for detecting CO-MRSA, but its absence in some CO-MRSA isolates from Australia, the United States and Switzerland (22, 28, 30).

The genetic diversity of CO-MRSA strains has been reported (4, 6, 8, 28, 30, 42). As suggested by recent studies, CO-MRSA strains are characterized by multiple genetic lineages (4, 6, 8, 28, 30, 42). In fact, our nine *SCCmec* type IV CO-MRSA strains contained 6 ST and 3 CC types.

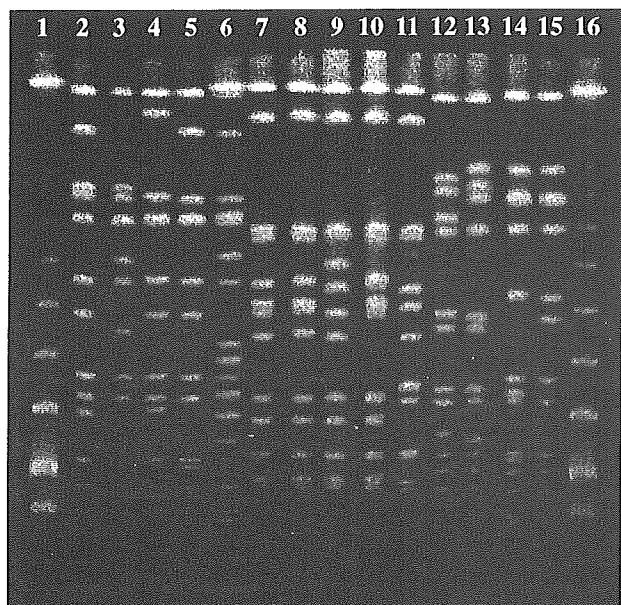


Fig. 1. PFGE patterns of 13 CO-MRSA isolates and one typical HA-MRSA strain. Low molecular-weight λ DNA ladder markers are shown in lane 1 and 16. Lanes 2–15 display results obtained with strains: lane 2, TWCC8290 (C, type A4), lane 3, TWCC8254 (C, type A39), lane 4, TWCC8202 (C, type A1), lane 5, TWCC8395 (H, type A11, ST5, CC5), lane 6, TWCC8336 (C, type L), lane 7, TWCC8422 (C, type B2), lane 8, TWCC8435 (C, type B2), lane 9, TWCC8454 (C, type B3), lane 10, TWCC8453 (C, type B4), lane 11, TWCC8288 (C, type B1), lane 12, TWCC8149 (C, type H), lane 13, TWCC8442 (C, type I), lane 14, TWCC8403 (C, type D1), lane 15, TWCC8441 (C, type D3). Letters in parentheses above show: CO-MRSA (C), HA-MRSA (H) and each PFGE type.

The PFGE clone B-coagulase type I lineage (five strains) showed archetypal microbiological features such as low level resistance to OXA, non-MDR, and was predominately isolated from skin infections. The MLST types of these strains belonged to CC509 and ST89, 91, 379 which are uncommonly seen in nosocomial isolates and have very rarely been reported as community-onset isolates. To date, we found only one ST89 and one ST91 MRSA strain from Japan (1, <http://www.mlst.net/BURST/burst.htm>); however the clinical history of the patients could not be clarified. Eighty percent (four of five) of the strains in this lineage harbored *etb* genes. ETB is one of the virulence factors associated with impetigo and staphylococcal scalded skin syndrome (45). Yamaguchi et al. described 6 similar *etb*-positive coagulase type I MRSA isolated from bullous impetigo patients in the western region of the main island of Japan (45). Moreover, these strains showed similar resistant profiles to our coagulase type I-CC509 isolates including low-level resistance to OXA, susceptibility to minocycline, and resistance to GEN.

Table 5. Properties of CO-MRSA and genetically-related isolates and their clinical backgrounds

Isolate	Background of patients		MIC (μ g/ml) of		Resistant profile	Coagulase type	Toxin gene	SCC _{mec} type	PFGE type	MLST analysis			
	Age	Sex	Infectious disease	Source						MET	OXA	Allelic profile	ST
TWCC8202	53	M	Burn skin infection	Skin	>256	>256	GEN, ERY, CLI, LVX, SPT, TET	II	IIa	A1	I-4-1-4-12-1-1-10	5	5
TWCC8254	23	M	Superficial skin infection	Skin	>256	>256	ERY, CLI, LVX, SPT, TET	II	IIa	A39	I-4-1-4-12-1-1-10	5	5
TWCC8290	52	M	Superficial skin infection	Skin	>256	>256	ERY, CLI, LVX, SPT, TET	II	IIa	A4	I-4-1-4-12-1-1-10	5	5
TWCC8336	23	F	Acute tonsillitis	Tonsil	>256	>256	ERY, SPT	II	IIa	L	I-4-1-4-12-1-1-10	5	5
TWCC8149	19	F	Conjunctivitis	Eye	16	32	GEN	VII	IV(non a,b,c)	H	I-1-1-1-1-1-1-1	1	1
TWCC8442	47	M	Chronic otitis media	Otorrhea	32	16	GEN, ERY, CLI, LVX, SPT	NT ^{a)}	IV(non a,b,c)	I	I-1-1-9-1-1-1-1	81	1
TWCC8403	22	M	Impetigo	Skin	48	64	GEN, TET	III	IV(non a,b,c)	D1	3-3-1-1-4-4-3	8	8
TWCC8441	3	M	Impetigo	Skin	32	32	GEN	III	IV(non a,b,c)	D3	3-3-1-1-4-4-3	8	8
TWCC8288	6	M	Impetigo	Skin	12	8	GEN, ERY	I	IVa	B1	I-26-28-18-18-33-50	89	509
TWCC8422	1	M	Impetigo	Skin	32	16	GEN, ERY, SPT	I	IVa	B2	I-26-28-18-59-54-50	379	509
TWCC8435	13	M	Acute rhinitis-tonsillitis	Tonsil	32	24	GEN	I	IVa	B2	I-26-28-18-18-54-50	91	509
TWCC8454	4	F	Conjunctivitis	Eye	16	24	GEN, ERY	I	IVa	B3	I-26-28-18-18-54-50	91	509
TWCC8453	4	F	Impetigo	Skin	16	16	GEN, ERY	I	IVa	B4	I-26-28-18-18-54-50	91	509

^{a)} NT, non-typeable.

Although we did not compare PFGE profiles directly or MLST analysis between our strains and Yamaguchi's strains, both lineages share similar microbiological features. These results indicate that most likely the dissemination of such *etb*-positive MRSA strains into the community have occurred in Japan. Yamaguchi et al. also reported that 9 coagulase type I *etb*-positive strains in this lineage, including 6 MRSA and 3 methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA), were grouped in a single cluster by PFGE analysis (45).

Although the origin of CO-MRSA strains remains speculative, they may have recently emerged by horizontal transfer of type IV *SCCmec* into a methicillin-susceptible lineage (10, 12, 17, 31). As it is the smallest of the 4 known *SCCmec* elements (21–24 kb in size), type IV *SCCmec* is probably more mobile than other classes of *SCCmec* (10, 12, 17, 31). *In vitro*, the growth rates of most CO-MRSA isolates are significantly faster than those of HA-MRSA, and comparable to that of MSSA (1, 21, 30). It can be speculated that such a selective advantage becomes a driving force in the dissemination of this CO-MRSA lineage benefits become driving forces to success this CO-MRSA lineage in the community of Japan. Interestingly, 3 other clone B strains were isolated from HA-MRSA. Two of the three clone B-ST89-CC509 HA-MRSA strains showed *SCCmec* type II, instead of type IV. One clone D HA-MRSA strain also belonged to *SCCmec* type II. There were some reports that the same PFGE clone strains shared *SCCmec* type II and type IV (4, 35).

The other four *SCCmec* type IV strains contained two lineages (CC1 and ST1 or ST81, CC8 and ST8). The CC1 strains have the same MLST allelic profile and coagulase type as that of the *S. aureus* strain which is the proposed ancestor of MW2, a CO-MRSA strain responsible for the deaths of four children in the United States (30). Furthermore, CC1 CO-MRSA strains have been reported in Australia with or without *pvl* genes (28, 30). CC8 CO-MRSA clones also have already become widely disseminated with community-onset infection in the United States and Australia (4, 6, 8, 28, 30, 42). Okuma et al. reported that two ST8 CO-MRSA strains from the United States belonged to coagulase type III (30) as was the case of TWCC8403 and TWCC8441. These results indicate that both CC1 and CC8 CO-MRSA strains may be particularly successful lineages. Type IV *SCCmec* has been classified into three subtypes based on sequence difference in the J1 region (17, 24, 30). Most CC1 or CC8 CO-MRSA strains belong to *SCCmec* type IVa, but subtypes of our strains could not be determined by PCR amplification of the J1 region (17, 24, 30). Similar untypeable *SCCmec* type IV CO-MRSA strains have been reported (28, 35).

Moreover, type IV *SCCmec* is widely distributed among MRSA or coagulase-negative staphylococci (CNS), with many potential reservoirs of this gene. *SCCmec* type IV may transfer from CNS to MSSA or vice versa (14, 44). These results indicate that type IV *SCCmec* has more genetic diversity than the other four types.

The remaining four CO-MRSA strains resemble HA-MRSA isolates in having characteristics such as MDR, coagulase type II, *SCCmec* type II, and MLST CC5 and ST5, and to some extent, could be easily distinguished from the *SCCmec* type IV CO-MRSA strains. This lineage is the same as a HA-MRSA New York/Japan clone that is widely disseminated in hospitals in the United States and Japan (1, 2, 4, 18–20, 26). The strict definition of “community-acquired,” “community-associated” or “community-onset” infection is still controversial (34). Some previous reports have described CO-MRSA as the result of migration of HA-MRSA overflow from hospital environments to the community (6, 39). In this study, we differentiated HA-MRSA strains on the basis of inpatient and outpatient-origin. Sixty-one out of seventy-four MRSA strains from outpatients belonged to HA-MRSA. Surprisingly, HA-MRSA strains from outpatients were most frequently isolated from otorrhea such as chronic otitis media or externa. One CO-MRSA strain TWCC8442 was also isolated from otorrhea of a patient with chronic otitis media. Some authors have reported that MRSA infections appear to be common in chronic otitis media (15, 36). Although the actual origins and transmission routes of CO-MRSA have not been still elucidated, our data suggest that chronic ear infections might be one of the origins of HA-MRSA into the community. Conversely, in our study three strains of HA-MRSA belonged to *SCCmec* type IV. These three strains (TWCC8331, 8409, 8479) also showed no MDR as in the case of CO-MRSA. These results suggest that some CO-MRSA strains may spread via nosocomial transmission. There have been several reports of CO-MRSA outbreaks originating from a hospital transmission (29, 33). While further studies are required, one should be aware of the epidemiological trends of CO-MRSA and HA-MRSA in the community.

We thank Robert S. Daum and Teruyo Ito for providing the MRSA strains. We also thank Takeshi Yasunami, Jun-ichi Mizushima, and Mikiko Takayama for help in reviewing clinical records. We are also grateful to Hiroshi Takahashi for critical review of the manuscript.

References

- 1) Aires de Sousa, M., and de Lencastre, H. 2003. Evolution of

- sporadic isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitals and their similarities to isolates of community-acquired MRSA. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 3806–3815.
- 2) Aires de Sousa, M., de Lencastre, H., Santos Sanches, I., Kikuchi, K., Totsuka, K., and Tomasz, A. 2000. Similarity of antibiotic resistance patterns and molecular typing properties of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates widely spread in hospitals in New York City and in a hospital in Tokyo, Japan. *Microb. Drug Resist.* **6**: 253–258.
 - 3) Becker, K., Roth, R., and Peters, G. 1998. Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for application and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes and toxic shock syndrome toxin 1 gene. *J. Clin. Microbiol.* **36**: 2548–2553.
 - 4) Carleton, H.A., Diep, B.A., Charlebois, E.D., Sensabaugh, G.F., and Perdreau-Remington, F. 2004. Community-adapted methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): population dynamics of an expanding community reservoir of MRSA. *J. Infect. Dis.* **190**: 1730–1738.
 - 5) Chambers, H.F. 2001. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*. *Emerg. Infect. Dis.* **7**: 178–182.
 - 6) Charlebois, E.D., Perdreau-Remington, F., Kreiswirth, B., Bangsberg, D.R., Ciccarone, D., Diep, B.A., Ng, V.L., Chansky, K., Edlin, B., and Chambers, H.F. 2004. Origins of community strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin. Infect. Dis.* **39**: 47–54.
 - 7) Chung, M., de Lencastre, H., Matthews, P., Tomasz, A., Adamsson, I., Aires de Sousa, M., Camou, T., Cocuzza, C., Corso, A., Couto, I., Dominguez, A., Gniadkowski, M., Goering, R., Gomes, A., Kikuchi, K., Marchese, A., Mato, R., Melter, O., Oliveira, D., Palacio, R., Sá-Leão, R., Santos-Sanches, I., Song, J.-H., Tassios, P.T., and Villari, P. 2000. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis: comparison of results obtained in a multilaboratory effort using identical protocols and MRSA strains. *Microb. Drug Resist.* **6**: 189–198.
 - 8) Coombs, G.W., Nimmo, G.R., Bell, J.M., Huygens, F., O'Brien, F.G., Malkowski, M.J., Pearson, J.C., Stephens, A.J., Giffard, P.M., and the Australian Group for Antimicrobial Resistance. 2004. Genetic diversity among community methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing outpatient infections in Australia. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 4735–4743.
 - 9) Daum, R.S., Ito, T., Hiramatsu, K., Hussain, F., Mongkolrattanothai, K., Jamklang, M., and Boyle-Vavra, S. 2002. A novel methicillin-resistant cassette in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates of diverse genetic backgrounds. *J. Infect. Dis.* **186**: 1344–1347.
 - 10) Eady, E.A., and Cove, J.H. 2003. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*—an emerging problem for the management of skin and soft tissue infections. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **16**: 103–124.
 - 11) Enright, M.C., Day, N.P., Davies, C.E., Peacock, S.J., and Spratt, B.G. 2000. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* **38**: 1008–1025.
 - 12) Enright, M.C., Robinson, D.A., Randle, G., Feil, E.J., Grundmann, H., and Spratt, B.G. 2002. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **99**: 7687–7692.
 - 13) Feil, J.E., Li, B.C., Aanensen, D.M., Hanage, W.P., and Spratt, B.G. 2004. eBURST: inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. *J. Bacteriol.* **186**: 1518–1530.
 - 14) Hanssen, A.-M., Kjeldsen, G., and Sollid, J.U.E. 2004. Local variants of staphylococcal cassette chromosome *mec* in sporadic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci: evidence of horizontal gene transfer? *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**: 285–296.
 - 15) Hwang, J.-H., Tsai, H.-Y., and Liu, T.-C. 2002. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in discharging ears. *Acta Otolaryngol.* **122**: 827–830.
 - 16) Ito, T., Ma, X.X., Takeuchi, F., Okuma, K., Yuzawa, H., and Hiramatsu, K. 2004. Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**: 2637–2651.
 - 17) Ito, T., Okuma, K., Ma, X.X., Yuzawa, H., and Hiramatsu, K. 2003. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resist. Update* **6**: 41–52.
 - 18) Kikuchi, K. 2003. Genetic basis of neonatal methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan. *Pediatr. Int.* **45**: 223–229.
 - 19) Kikuchi, K., Takahashi, N., Piao, C., Totsuka, K., Nishida, H., and Uchiyama, T. 2003. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing neonatal toxic shock syndrome-like exanthematous disease in neonatal and perinatal wards. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 3001–3007.
 - 20) Ko, K.S., Lee, J.-Y., Suh, J.Y., Oh, W.S., Peck, K.R., Lee, N.Y., and Song, J.-H. 2005. Distribution of major genotypes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Asian countries. *J. Clin. Microbiol.* **43**: 421–426.
 - 21) Laurent, F., Lelièvre, H., Cornu, M., Vandenesch, F., Carret, G., Etienne, J., and Flandrois, J.-P. 2001. Fitness and competitive growth advantage of new gentamicin-susceptible MRSA clones spreading in French hospitals. *J. Antimicrob. Chemother.* **47**: 277–283.
 - 22) Liassine, N., Auckenthaler, R., Descombes, M.-C., Bes, M., Vandenesch, F., and Etienne, J. 2004. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Switzerland contains the Pantone-Valentine leukocidin or exfoliative toxin genes. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 825–828.
 - 23) Lina, G., Piémont, Y., Godail-Gamot, F., Bes, M., Peter, M.-O., Gauduchon, V., Vandenedch, F., and Etienne, J. 1999. Involvement of Pantone-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin. Infect. Dis.* **29**: 1128–1132.
 - 24) Ma, X.X., Ito, T., Tiensasitorn, C., Jamklang, M., Chong-

- trakool, P., Boyle-Vavra, S., Daum, R.S., and Hiramatsu, K. 2002. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**: 1147–1152.
- 25) Matsuda, Y., Kato, H., Yamada, R., Okano, H., Oota, H., Imanishi, K., Kikuchi, K., Totsuka, K., and Uchiyama, T. 2003. Early and definitive diagnosis of toxic shock syndrome by detection of marked expansion of T-cell-receptor $\nu\beta 2$ -positive T cells. *Emerg. Infect. Dis.* **9**: 387–389.
 - 26) Naimi, T.S., LeDell, K.H., Como-Sabetti, K., Borchardt, S.M., Boxrud, D.J., Etienne, J., Johnson, S.K., Vandenesch, F., Fridkin, S., O'Boyle, C., Danila, R.N., and Lynfield, R. 2003. Comparison of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA* **290**: 2976–2984.
 - 27) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 13th informational supplement, vol. 23, no. 1, M100-S13, NCCLS, Wayne, Pa.
 - 28) O'Brien, F.G., Lim, T.T., Chong, F.N., Coombs, G.W., Enright, M.C., Robinson, D.A., Monk, A., Saïd-Salim, B., Kreiswirth, B.N., and Grubb, W.B. 2004. Diversity among community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Australia. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 3185–3190.
 - 29) O'Brien, F.G., Pearman, J.W., Gracey, M., Riley, T.V., and Grubb, W.B. 1999. Community strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a hospital outbreak. *J. Clin. Microbiol.* **37**: 2858–2862.
 - 30) Okuma, K., Iwakuma, K., Turnidge, J.D., Grubb, W.B., Bell, J.M., O'Brien, F.G., Coombs, G.W., Pearman, J.W., Tenover, F.C., Kapi, M., Tiensasitorn, C., Ito, T., and Hiramatsu, K. 2002. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone in the community. *J. Clin. Microbiol.* **40**: 4289–4294.
 - 31) Robinson, D.A., and Enright, M.C. 2003. Evolutionary models of the emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**: 3926–3934.
 - 32) Saïd-Salim, B., Mathema, B., and Kreiswirth, B.N. 2003. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **24**: 451–455.
 - 33) Saiman, L., O'Keefe, M., Graham, P.L., III, Wu, F., Saïd-Salim, B., Kreiswirth, B., LaSala, A., Schlievert, P.M., and Della-Latta, P. 2003. Hospital transmission of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among postpartum women. *Clin. Infect. Dis.* **37**: 1313–1319.
 - 34) Salgado, C.D., Farr, B.M., and Calfee, D.P. 2003. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. *Clin. Infect. Dis.* **36**: 131–139.
 - 35) Shukla, S.K., Stemper, M.E., Ramaswamy, S.V., Conradt, J.M., Reich, R., Graviss, E.A., and Reed, K.D. 2004. Molecular characteristics of nosocomial and native American community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones from rural Wisconsin. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 3752–3757.
 - 36) Suh, H.K., Jeon, Y.H., Song, J.S., Hwang, S.J., and Cheong, H.J. 1998. A molecular epidemiologic study of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in patients undergoing middle ear surgery. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* **225**: 347–351.
 - 37) Takahashi, N., Kato, H., Imanishi, K., Miwa, K., Yamanami, S., Nishida, H., and Uchiyama, T. 2000. Immunopathophysiological aspects of an emerging neonatal infectious disease induced by a bacterial superantigen. *J. Clin. Invest.* **106**: 1409–1415.
 - 38) Takahashi, N., Nishida, H., Kato, H., Imanishi, K., Sakata, Y., and Uchiyama, T. 1998. Exanthematous disease induced by toxic shock syndrome toxin 1 in the early neonatal period. *Lancet* **351**: 1614–1619.
 - 39) Tambyah, P.A., Habib, A.G., Ng, T.-M., Goh, H., and Kumarasinghe, G. 2003. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in Singapore is usually "healthcare associated." *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **24**: 436–438.
 - 40) Tenover, F.C., Arbeit, R.D., Goering, R.V., Mickelsen, P.A., Murray, B.E., Persing, O.H., and Swaminathan, B. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* **33**: 2233–2239.
 - 41) Van der Mee-Marquet, N., Lina, G., Quentin, R., Yaouanc-Lapalle, H., Fièvre, C., Takahashi, N., and Etienne, J. 2003. Staphylococcal exanthematous disease in a newborn due to a virulent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain containing the TSST-1 gene in Europe: an alert for neonatologists. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 4883–4884.
 - 42) Vandenesch, F., Naimi, T., Enright, M.C., Lina, G., Nimmo, G.R., Heffernan, H., Liassine, N., Bes, M., Greenland, T., Reverdy, M.-E., and Etienne, J. 2003. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg. Infect. Dis.* **9**: 978–984.
 - 43) Wang, C.-C., Lo, W.-T., Chu, M.-L., and Siu, L.K. 2004. Epidemiological typing of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children in Taiwan. *Clin. Infect. Dis.* **39**: 481–487.
 - 44) Wisplinghoff, H., Rosato, A.E., Enright, M.C., Noto, M., Craig, W., and Archer, G.L. 2003. Related clones containing SCC*mec* type IV predominate among clinically significant *Staphylococcus epidermidis* isolates. *J. Clin. Microbiol.* **47**: 3547–3579.
 - 45) Yamaguchi, T., Yokota, Y., Terajima, J., Hayashi, T., Aepfelbacher, M., Ohara, M., Komatsuzawa, H., Watanabe, H., and Sugai, M. 2002. Clonal association of *Staphylococcus aureus* causing bullous impetigo and the emergence of new methicillin-resistant clonal groups in Kansai district in Japan. *J. Infect. Dis.* **185**: 1511–1516.

病原微生物検出情報

月報

Infectious Agents Surveillance Report (IASR)

http://idsc.nih.gov.jp/iasr/index-j.html

Vol.26 No.3(No.301)

2005年3月発行

国立感染症研究所
厚生労働省健康局
結核感染症課

事務局 感染研感染症情報センター
〒162-8640 新宿区戸山1-23-1
Tel 03(5285)1111 Fax 03(5285)1177
E-mail iasr-c@nih.gov.jp

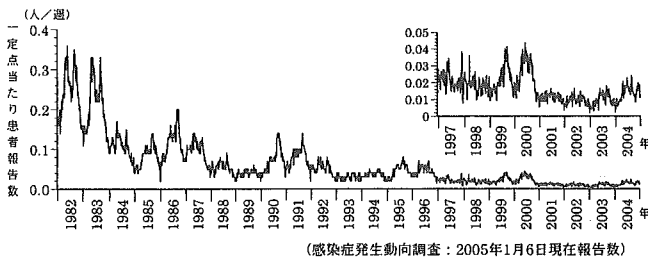
(禁、無断転載)

日本における百日咳の状況：抗原変異株の出現状況 3, 集団発生事例 4, 成人の百日咳 6, DPT ワクチン接種のモニタリング 7, 各種抗菌薬に対する百日咳菌の感受性 8, 米国の百日咳の状況 9, 大腸菌の新規血清群 10, ノロウイルスによる集団胃腸炎事例：神奈川県 11, B型インフルエンザウイルス分離状況：札幌市 12, 保育所における EHEC O26 集団感染事例：兵庫県 13, Human parechovirus 検出状況：愛知県 14, 病院に関連した百日咳集団発生：米国 15, 米軍の牛ひき肉関連 O157:H7 感染：沖縄県 15, 狂犬病を発症後回復した 1 例：米国 16, 医療従事者の血液媒介ウイルスへの職業上の曝露：英国 17, ドミニカ共和国におけるマラリアのリスクと予防 17, チフス菌・パラチフス A 菌のファージ型別成績 22

本誌に掲載された統計資料は、1)「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に基づく感染症発生動向調査によって報告された、患者発生および病原体検出に関するデータ、2) 感染症に関する前記以外のデータに由来する。データは次の諸機関の協力により提供された：保健所、地方衛生研究所、厚生労働省食品安全部、検疫所、感染性腸炎研究会。

<特集> 百日咳 1997~2004

図1. 百日咳患者報告数の推移, 1982年第1週~2004年第53週

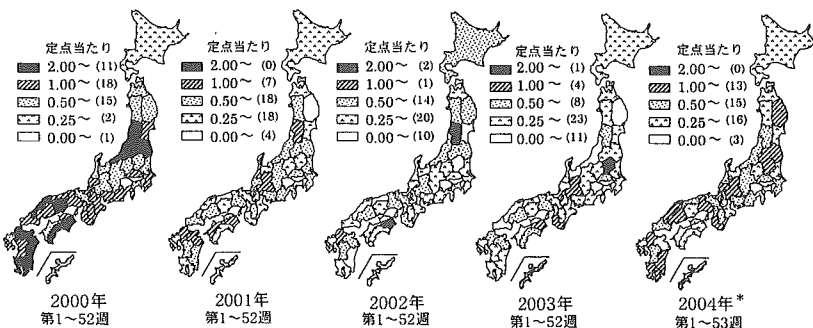


(感染症発生動向調査：2005年1月6日現在報告数)

百日咳菌は好気性のグラム陰性短桿菌で、百日咳毒素 (PT), 繊維状赤血球凝集素 (FHA), パータクチン (PRN), アデニル酸シクラーゼ毒素 (ACT) などの病原因子が同定されている。百日咳菌は患者の上気道分泌物の飛沫などにより経気道的に伝播され、その感染力は極めて強い。わが国では、1981年から精製抗原 (不活化PT およびFHA が主) を含むジフテリア・百日咳・破傷風三種混合 (DPT) ワクチンが使われている。接種開始年齢は初め集団接種・2歳以上が原則であったが、1994年の予防接種法改正で1995年4月からは個別接種・3カ月以上となった。数社のワクチンには微量のゼラチンが含まれていたが、抗ゼラチン IgE 抗体を産生させることが判り (Sakaguchi M & Inouye S, Jpn J Infect Dis 53: 189-195, 2000), 1999年までに全社の DPT ワクチンがゼラチン無添加に改良された。

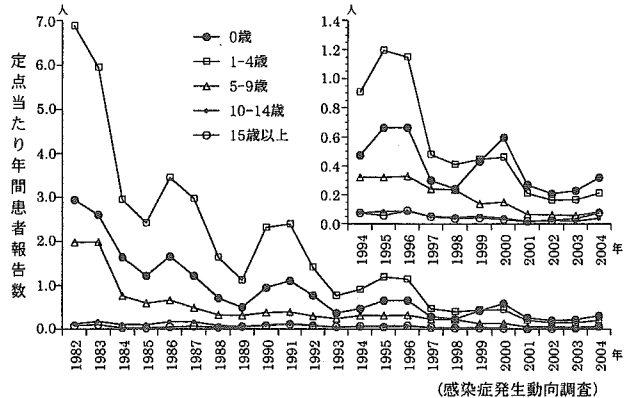
百日咳患者発生状況：百日咳は感染症法に基づく感染症発生動向調査の5類感染症として全国約3,000の

図2. 都道府県別百日咳患者発生状況 (感染症発生動向調査)



() は都道府県の数を示す。* 2005年1月6日現在報告数

図3. 百日咳患者年齢群別報告数の推移, 1982~2004年



(感染症発生動向調査)

小児科定点から毎週患者数が報告される。1950~70年まで百日咳は約4年ごとの流行を繰り返していたが、その後流行は徐々に小さくなり、1982~83年、1986年、1990~91年にわずかな患者数の増加が認められたが (IASR 18: 101-102, 1997参照), 1997年以降は流行を示す明確なピークはなくなった (図1)。

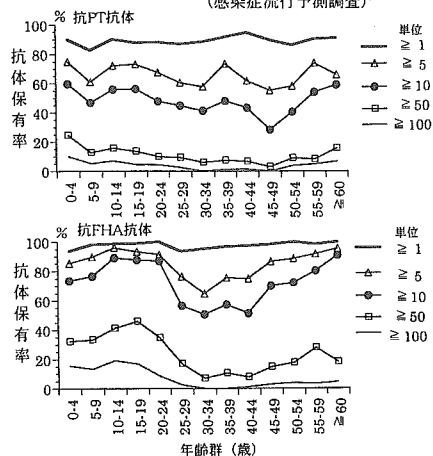
2000~04年の患者発生状況を都道府県別にみると、2000年には定点当たり患者報告数が2.0以上の都道府県が11県認められたが、2001年以降では山形県、徳島県、栃木県のみとなった (図2)。このことから、都道府県をまたぐような百日咳流行はすでに消失していると言える。

図3に1982~2004年における百日咳患者の年齢群別報告数 (年間定点当たり) を示した。DPT ワクチン導入後それまで患者の約4割を占めていた1~4歳の患者が大きく減少した。0歳の患者も減少したが、まだ4年の周期性が残っている。また2004年にはわずかながら各年齢群で増加が示された。なお、2000年以降、0歳が1~4歳の患者数を上回っているが、1999年の感染症法施行以降、定点を小児科中心の医療機関に変更したことから他の疾患でも同様に低年齢の患者割合の増加がみ

(2ページにつづく)

(特集つづき)

図4. 年齢群別百日咳ELISA抗体保有状況, 2003年
(感染症流行予測調査)



られている (IASR 25: 318-320, 2004参照)。

百日咳抗体保有状況：2003年度の感染症流行予測調査により一般健康者の百日咳 ELISA 抗体保有状況が調査された (なお, 2003年度は初めて小児のみならず成人を含む全年齢層での調査となった)。ワクチンの主成分であり抗原性の異なる PT と FHA に対する抗体が発症および感染防御に働くと考えられている。また, 百日咳患児の回復期血清の抗体価下限値から抗体価10単位 (EU/ml) が感染防御レベルと推定されていることから, ここでは抗 PT 抗体と抗 FHA 抗体の抗体価10単位以上の保有率について考察を行う。

年齢群別抗体保有状況の調査では, 抗 PT 抗体では45~49歳群で28%と最小値を示したが, 他の年齢群での保有率は41~60%であり, 年齢による大きな差は認められなかった (図4)。一方, 抗 FHA 抗体では25~44歳の年齢層でやや低い (51~57%) が, 他の年齢群では高いレベル (71~91%) で抗体を保有していることが示された。25~29歳の年齢群は1975年のワクチン接種一時中止~1981年の DPT ワクチン導入までの接種率が低かった時期と符合する。また, 30代~40代前半の年齢層は全菌体ワクチンの接種時期に相当する。

ワクチン接種歴別の抗体保有状況を見ると, 抗 PT 抗体および抗 FHA 抗体ともに抗体価10単位以上の保有率は追加接種による影響を受けていないことが示された (図5)。ワクチン未接種群では年齢とともに抗 PT 抗体と抗 FHA 抗体保有率の上昇が認められ, 患者数の激減した現在でも百日咳菌は市中を循環しており, ワクチン未接種児が感染することを示唆している。抗 PT 抗体, 抗 FHA 抗体ともに1~16歳における保有率はほぼ一定であり, 1995年以降差が認められなかったことから (図6), 現行ワクチンの品質に変化は起きていないと考えられる。

現在の問題点：わが国では百日咳の流行はすでに無くなったが, 産科や小児病棟などでの小規模な集団発生 (院内感染) (本号4ページ参照) や家族内感染

図5. 百日咳ワクチン接種歴別の年齢群別ELISA抗体保有状況, 2003年
(感染症流行予測調査)

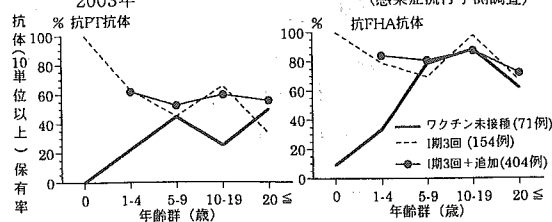
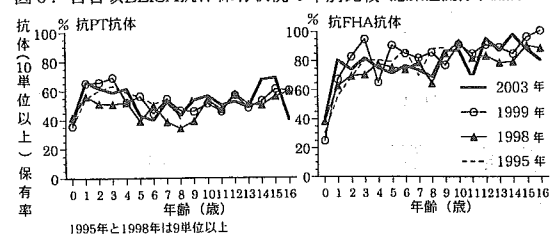


図6. 百日咳ELISA抗体保有状況の年別比較 (感染症流行予測調査)

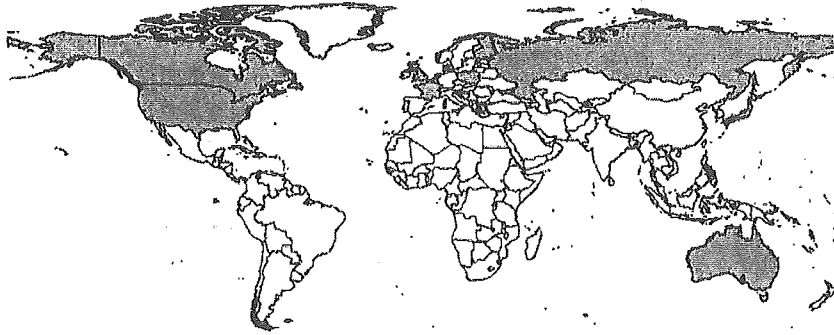


(本号4&6ページ参照) が散見される。典型的な症状を示さない年長児や成人が百日咳と診断されず, 感染源となる場合が多いと考えられる。百日咳の確定診断に必要な百日咳菌の分離率は低く, また, 抗体検出は時間を要するため, 臨床現場では症状による臨床診断が主に行われている。PCR による遺伝子診断も研究室レベルでは行われているものの, まだ特異性と検出感度は十分とは言えない。実際には百日咳と確定診断されず報告されない散発例や集団発生事例が多数潜在していると考えられる。今後, 迅速かつ簡便な遺伝子診断法等の開発が必要であろう。

予防接種法改正で1995年にワクチン接種開始年齢が早くなったことにより1~4歳の患者数は減少した。しかし, 0歳児の患者の減少は最近止まっていることから, 生後3カ月になったらできるだけ早期にワクチン接種を受けることが望まれる。これはワクチン接種歴と罹患率の関係からも明らかである (本号7ページ参照)。しかし, 高いワクチン接種率を維持する米国などで近年患者数の増加が認められており, 百日咳は再興感染症として位置付けられている (本号9ページ参照)。海外での百日咳の再興原因は明らかとなっていないが, 流行株の変異 (本号3ページ参照) や青年層での患者増加 (本号6ページ参照) などが認められている。また, 米国では少数例ながらマクロライド耐性百日咳菌の出現が確認されている (本号8ページ参照)。

患者数が激減した現在, 現行の定点サーベイランスでは定点のない地域の小流行を探知することが困難となっている。正確な患者発生動向を把握するためには, 今後, 例えば全数報告のようなサーベイランスシステムの構築が必要となろう。わが国でも百日咳菌の薬剤耐性株の出現や, 抗体価の減衰した成人の感染によって百日咳患者数が増加する可能性は否定できないため, 病原体サーベイランスを強化して菌分離と解析を積極的に行う必要がある。

図2. 世界における百日咳抗原変異株の出現状況



灰色は抗原変異株の出現が確認された国。
 なお、ロシアはサンクトペテルブルク市での出現確認であり、全国レベルではない。

では百日咳患者数は再び増加傾向にある。患者発生動向は各国において様々な様相を呈しているが、患者数が増加傾向にある国もあるため、抗原変異株とワクチン有効性との関係は無視できない状況である。

アジアにおける抗原変異株の出現状況は、日本を除き残念ながら明らかとなっていない。日本では抗原シフトが進行中であるため、アジア地域における抗原シフトの進行状況には興味のあるところである。交通手段が発達し、各国の人的移動が激しい状況下においては、感染症対策は自国だけではなく近隣諸国の動向にも目を向けなければならない。

4. おわりに

現在、わが国では百日咳患者数は依然減少傾向にあるため、現行ワクチンの有効性に特段の変化は起きていないものと考えられる。しかし、日本では百日咳菌の抗原シフトは進行中であり、すでに抗原シフトが終了した欧米諸国とは状況が大きく異なっている点に注意しなくてはならない。わが国でも抗原シフトが進行した場合、欧米のように患者数の増加が生じる可能性は否定できないため、今後も抗原変異株の出現動向を監視するとともに、患者数の発生動向については注意していく必要がある。また、百日咳菌は常時ワクチンによる強い選択圧を受けており、この選択圧を回避するために新たな百日咳菌が出現する可能性も考慮しなくてはならない。

文 献

- 1) de Melker HE, et al., Emerg Infect Dis 6: 348-357, 2000
- 2) Mooi FR, et al., Infect Immun 66: 670-675, 1998
- 3) Kodama A, et al., J Clin Microbiol 42: 5453-5457, 2004

国立感染症研究所・細菌第二部
 蒲地一成 児玉温子 堀内善信
 近田俊文 荒川宜親

<特集関連情報>

百日咳集団発生事例

1. 最近の百日咳について

欧米諸国など予防接種率の高い地域においても患者の多発が報告されることがあり、百日咳は近年注目される再興感染症のひとつである。成人や年長児では非定型的や軽い症状のことが多く、百日咳と診断されず見逃される患者が存在し、彼らが感染源となることがある。罹患した際に重症化する頻度が高いのは、低月齢乳児や新生児である。私たちが経験した2つの事例を報告する。

2. 集団発生 1

2000年4月のほぼ同一時期に、三重病院で5例の百日咳患者を診療した。発症日齢は、生後7日～17日の新生児で、全員が同一の産科医院で出生した児であった(図1)。症例1は生後2週目頃より軽度の咳に気付かれ、近医で数日間治療されていたが、突然無呼吸発作を来し当院へ搬送された。入院後も無呼吸は頻発し、気管内挿管、14日間の人工呼吸管理が必要であった。他の4例は、咳、呼吸困難、哺乳不良が主な症状で、1例を除いて入院治療が必要であった。幸い、5例とも後遺症無く回復した。2例(症例1, 2)の鼻咽頭培養から百日咳菌が分離され、PFGE および RFLP 法による解析の結果、遺伝子的に同一株と考えられた。

図1. 集団発生1～百日咳に罹患した新生児5例の出生日と発症日

	April				May					
	5	10	15	20	25	1	5	10	15	20
症例1	◇			★	◎					
症例2	◇			★	◎					
症例3		◇	★			◎				
症例4			◇			★	◎			
症例5		◇			★					◎

◇：出生日
 ★：発症日
 ◎：三重病院受診

この結果より、無症状あるいは非定型的な症状しか呈さない成人など同一感染源からの感染を疑ったが、特定には至らなかった。分離菌の抗菌薬感受性を検討した結果、PIPC (0.004~0.015), CPZ (0.015~0.06), CAM (0.015~0.03), AZM (0.03), EM (0.06), LVFX (0.03~0.06), MINO (0.03~0.06) などのMICが良好であった。血清抗体価については、細菌凝集素価は3例(症例1, 2, 5)で上昇していたが、山口株陽性は1例のみ(症例5)であった。PT抗体価の上昇が3例(症例3, 4, 5), FHA抗体価の上昇が3例(症例1, 3, 5)で認められたが、陽性化の時期は発症2週目以降であった。

3. 集団発生 2

2004年4月末、1カ月女児が咳と無呼吸発作を主訴に入院し、鼻咽頭培養より百日咳菌が分離された。血清抗体価は、細菌凝集反応東浜株320倍、山口株80倍、PT抗体53 EU/ml, FHA抗体20 EU/mlと上昇した。咳込みと無呼吸発作は長引き、入院期間は数週間に及んだ。本児は、両親と子5人の7人家族の末っ子であった。家族歴聴取により、3人の兄妹と母が約1カ月に及んで咳が続いていたことがわかった。同意を得て、家族の細菌および血清学的検討を行った。母の鼻咽頭からは百日咳菌が分離されたが、他の子どもたちは培養陰性であった。血清抗体価は、4月末の時点で細菌凝集反応640倍~10,240倍、PT抗体570~1,300 EU/

ml, FHA抗体340~1,000 EU/mlと、咳を認めなかった第2子も含めて全員が非常に高値であった。8月にペア血清として2回目の採血を行ったところ、細菌凝集反応<20倍~2,560倍、PT抗体130~460 EU/ml, FHA抗体360~830 EU/mlであり、4月末と比較して抗体価は低下傾向であった(図2)。本結果より、3~4月の時点で百日咳菌の家族内伝播があったと考えた。母の予防接種歴は不明であったが、4人の子どもたちについては、11歳、9歳、5歳児は4回、2歳児は3回のDPT接種を済ませていた。典型的な百日咳の症状を呈さなかったのは年齢と予防接種の効果によると考えられた。予防接種率が良好な集団においても、濃厚接触者においては菌の伝播が起こることを、本事例により再認識した。重症化し入院した1カ月児は、いまだ予防接種該当年齢に達してはいなかったわけであり、本児の罹患を未然に防ぐ方法としては、咳が遷延した家族に対する早期診断と本児に対する抗菌薬の予防内服が考えられた。しかしその実行は、なかなか容易ではなかったであろう。咳が持続する年長児や成人の患者に対して、百日咳を念頭において外来で細菌培養検査が行われる場合は少ない。また、百日咳分離培養用のBordet-Gengou培地やCyclodextrin Solid培地は、どの医療機関でも常備されているとは限らない。抗体価上昇による診断は、ワンポイントの採血では確定できない場合も多い。加えて、米國小児科学会

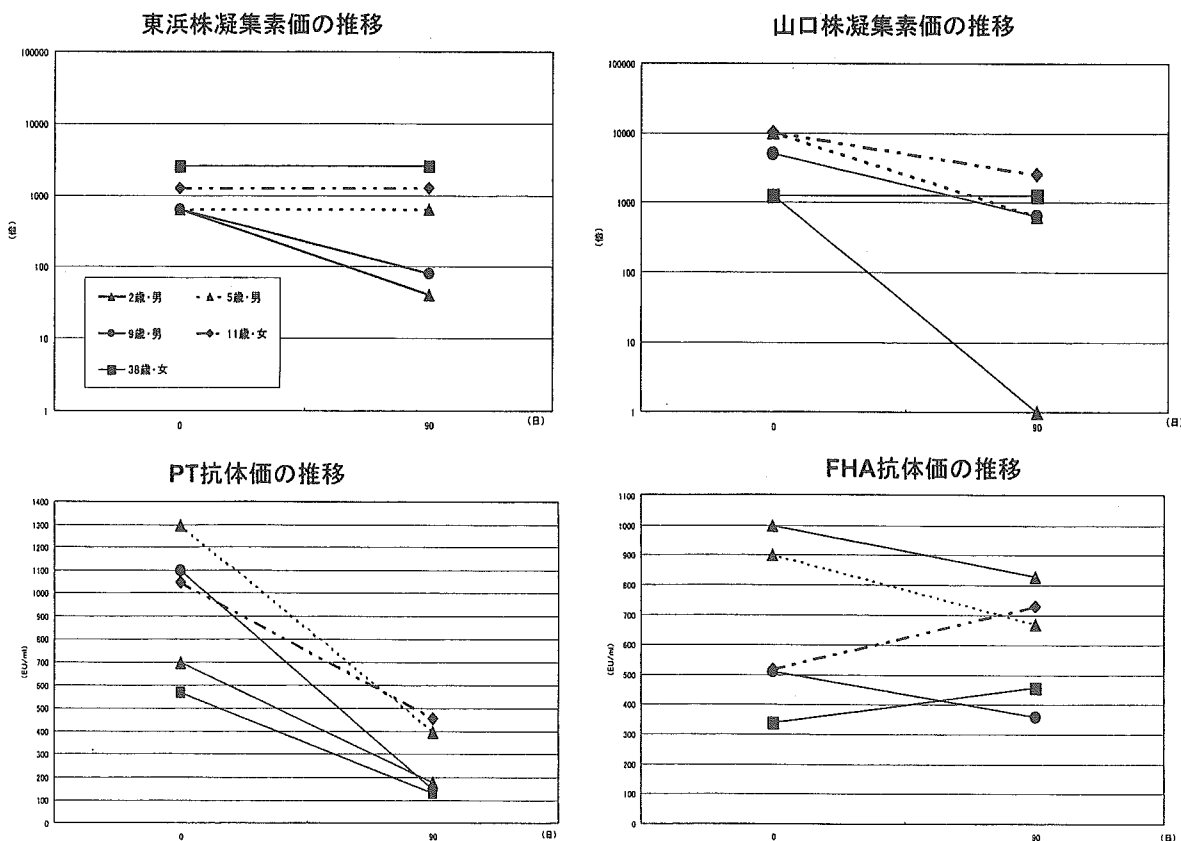


図2. 家族内伝播事例における抗体価の推移

は百日咳患者との濃厚接触者に対してはエリスロマイシンの予防内服を勧告しているが、わが国には化学予防の指針は存在せず保険適応もない。

4. 結語

典型的な症状を呈する例は別として、百日咳の診断は決して容易ではない。臨床医は迅速かつ的確な診断を行い、適切な診療ができるよう心がけたい。また、百日咳患者に関する診療レベルを向上させるためには、実験室診断に裏付けられた臨床研究が不可欠と考える。

今回の集団発生2事例については、多くの先生方に細菌学的、血清学的検討にご協力いただいたことにより、確定診断と疫学的検討が可能となった。この場をお借りして、下記の先生方に深謝申し上げます(敬称略)。岩出義人, 山内昭則, 杉山 明(三重県科学技術振興センター保健環境研究部), 大塚正之(江東微生物中央研究所つくば細菌検査室), 秋山正尊(阪大微生物病研究会サーベイランスセンター), 蒲地一成, 岩城正昭, 近田俊文, 荒川直親(国立感染症研究所細菌第二部)

文献

- 1) American Academy of Pediatrics, Pertussis, In; Red Book 26th ed. 472-486, 2003
- 2) 加藤達夫, 他, 百日咳, 日常診療に役立つ小児感染症マニュアル 2003-2004 (小児感染症学会編), 39-45, 東京医学社, 2003
- 3) 中野貴司, 他, 同一時期に発症した新生児百日咳5例に関する検討(第75回日本感染症学会総会学術講演抄録), 感染症学雑誌 75: 156, 2001
 国立病院機構三重病院・小児科
 中野貴司 庵原俊昭 神谷 齊

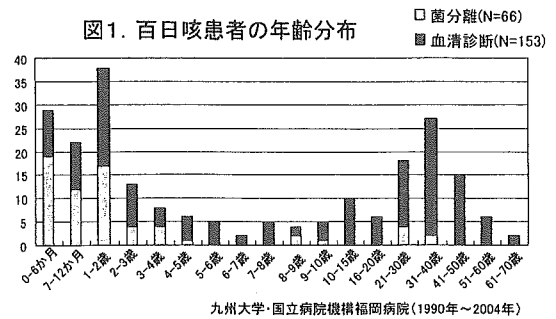
<特集関連情報>

成人の百日咳：乳幼児との違い

DPT ワクチン未接種児の百日咳は、特有な咳と特徴的な検査所見から臨床診断は容易である。一方、年長児・成人の百日咳は特有な咳がなく、気が付かれなまま、乳幼児への感染源となっていることが多い。成人における百日咳感染症の臨床的特徴を小児と比較した。

百日咳の家族内感染事例を紹介する。Index case は1カ月女児で無呼吸・チアノーゼを認め入院。白血球数 17,500/ μ l (Ly 78%) で百日咳菌を分離した。典型的な百日咳の臨床経過と検査所見と思われる。33歳母親は患児発病14日前頃から軽い咳が2週間持続していた。百日咳と血清診断できた。4歳姉は母親と同じ時期に軽い咳があり1週間持続。DPT ワクチン4回接種。症状は軽症であったが、血清学的に百日咳と診断できた。6歳兄もDPT ワクチン4回接種済み。患児と同じ時期に軽い咳があったが、ペア血清で抗体

図1. 百日咳患者の年齢分布



九州大学・国立病院機構福岡病院(1990年~2004年)

表1 年長児・成人の慢性咳嗽患者#1における百日咳(N=41)

○年齢	平均36歳(12歳~66歳)
○性別	男性17名 女性24名
○初診時白血球数	6,825/u/l (3470~11820/u/l)
○初診時リンパ球	28%(7~58%)
○咳の平均持続月数	2.0か月
○咳の特徴	咳込みによる目覚め(85%) 発作性の咳(80%) 咳が止まらず息苦しい(70%) 咳込み後の嘔吐(31%)
○合併症	肋骨骨折、急性喉頭炎
○気道過敏性亢進(標準法)	6/9
○家族歴	あり 23(14例は児が百日咳) なし/不明 14/4

#1慢性咳嗽:4週間以上続く咳
 #2百日咳の診断:・百日咳菌分離
 ・対血清:凝集素価またはPT/FHA抗体価の陽転または4倍以上の上昇
 ・単血清:凝集素価320倍以上 PT/FHA年齢別抗体価の2SD以上
 国立病院機構福岡病院(1999-2004年)

価上昇はなく、百日咳とは診断できなかった。パラ百日咳菌を分離した。30歳父親は患児発病2週間後から咳が始まり、時に咳込みもあった。ジフテリア・百日咳ワクチンを4回接種されていた。咳は約40日間あり、百日咳菌が分離できたが、白血球数は5,500/ μ l、リンパ球23%であった。以上のようにワクチン接種児や成人では症状や検査所見に特徴がないため、気づかれていないことが多いと考えられる。

図1に1990年~2004年までに百日咳と診断できた症例の年齢分布を示す。百日咳菌は乳幼児で臨床的に百日咳を疑った場合、分離できることが多い(分離率30~40%)。一方、年長児・成人の場合、気が付かれたときは急性期でないことが多く、診断は血清診断に頼らざるを得ない。当院呼吸器内科で慢性咳嗽患者(4週間以上続く咳)の中で百日咳と診断できた症例の臨床的特徴を表1に示す。平均年齢は36歳、初診時白血球数は3,470~11,820/ μ lで15,000/ μ lを超えた例はなく、リンパ球百分率も7~58%で70%以上の症例は認められなかった。咳の特徴は、1)咳込みによる目覚め、2)発作性の咳こみ、3)咳が止まらず息苦しい、4)咳込み後の嘔吐などであった。咳のため肋骨骨折が認められた例もあった。気道過敏性検査(標準法)を実施した9例中6例(67%)に亢進が認められた。家族歴が確認できた例が23例(56%)あり、そのうち14例は児が百日咳で入院または外来治療歴が確認された。詳細な家族歴を聴取することが診断の手がかりとなる。

次ページ図2に感染症発生動向調査事業での1982年~2004年までの定点患者総数を示す。1981年から

図2. 定点における百日咳患者報告数と年長児(10歳~14歳、15歳以上)の割合

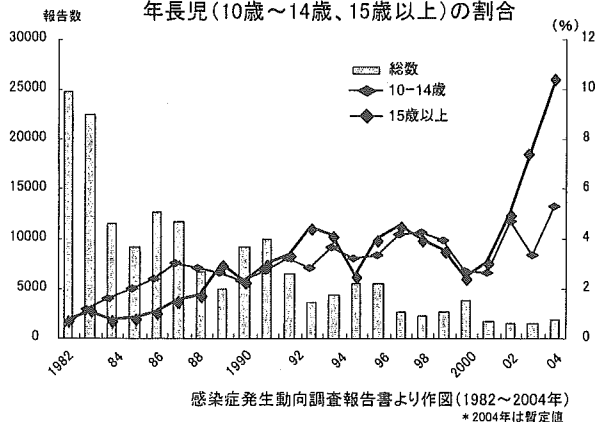
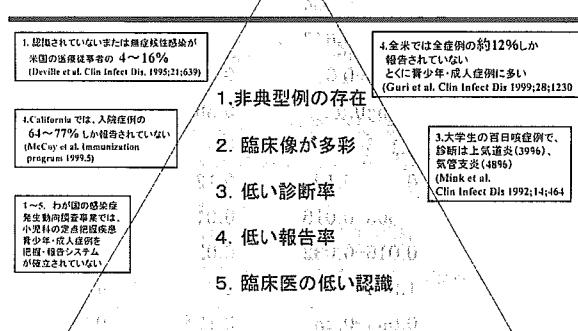


図3. 報告されている百日せき症例は氷山の一角



わが国では世界に先駆け、副反応が少なく効果も優れた無菌体百日咳ワクチン (DaPT) を接種している。接種率上昇とともに百日咳患者は著明に減少してきた。ただ、年齢別割合で見ると、近年、とくに15歳以上の割合が増加している。米国内も同様の傾向がある。

以上のように、報告されている成人百日咳症例は氷山の一角にすぎない (図3)。年長児・成人の百日咳は、臨床像が多彩で、診断率も低い。さらに、感染症発生動向調査事業では、小児科の定点把握疾患となっているため、青少年・成人症例を把握・報告するシステムが確立されていないのが現状である。

国立病院機構福岡病院・小児科 岡田賢司
 ・内科 野上裕子
 ・検査課 師岡津代子
 福岡県保健環境研究所 堀川和美

<特集関連情報>

DPT ワクチン接種のモニタリング——秋田県

はじめに

サーベイランスは感染症の蔓延防止および予防に役立てられている。欧米では、1960年代にアメリカでポリオワクチンのモニタリングが行われ、ポリオ撲滅につながったことが報告されている¹⁾。ワクチン接種においてもサーベイランスは有効であると考えられた。これまで、わが国では3歳児健康診査 (3歳児健診)

や予防接種台帳を用いて定期予防接種の把握を行ってきた。しかしながら、予防接種法の一類疾病および結核予防法で定められているワクチンの継続的なモニタリングとして活用されていないのが現状である²⁾。従って、経年的なワクチン接種割合の比較やワクチン接種の有無と対象疾患の罹患有無との関連についての検討を十分に行うことができない。そこで、2004年4月から秋田県において予防接種法の一類疾病のワクチン接種および結核予防法で定められているBCGに関する継続的なモニタリングを実施することを目的にモニタリングを開始した。本報ではモニタリングから得られたデータからワクチン接種割合およびワクチン接種と百日咳の罹患について記述統計による検討を行った。

対象と方法

対象者は秋田県内で協力の得られた18市町村で2004年4月~12月までに3歳児健診参加児の保護者とした。調査方法は対象者に事前に質問紙を配布し、母子手帳に記述されたワクチン接種歴、罹患歴等を参照しながら記入してもらい、3歳児健診時に回収した。回収率は92.0% (1,094/1,189)であった。性、出生順位、予防接種歴、百日咳の罹患歴、罹患日のどれか1つでも未記入の項目がある者は解析から除外した。

結果

質問紙の記入者は母親が1,029人 (96.8%)であった。記入者が母親である場合の平均年齢は32.9歳 (SD: 5.2歳)であった。表1に対象児の属性を示した。対象児は男児が532人 (50.3%)、女児が526人 (49.7%)であった。出生順位は第1子が541人 (51.1%)、第2子が407人 (38.5%)、第3子および第4子が110人 (10.4%)であった。3歳児健診までの間に接種可能なDPT ワクチンの接種状況はDPT 1期1回目の接種が1,009人 (95.4%)、DPT 1期2回目の接種が

表1. 対象者の属性 (N=1058人)

	人	(%)
性		
男	532	(50.3)
女	526	(49.7)
出生順位		
第一子	541	(51.1)
第二子	407	(38.5)
第三子	97	(9.2)
第四子	13	(1.2)
予防接種		
DPT 1期 1回目	1009	(95.4)
DPT 1期 2回目	998	(94.3)
DPT 1期 3回目	978	(92.4)
DPT 1期 追加	885	(83.6)
百日咳		
罹患	10	(0.9)
百日咳罹患年齢		
1ヵ月	1	
2ヵ月	1	
3ヵ月	1	
4ヵ月	1	
5ヵ月	4	
22ヵ月	1	
34ヵ月	1	

表 2. 百日咳罹患者の DPT1 期 1 回目接種

接種年齢	百日咳罹患年齢							合計
	1 ヵ月	2 ヵ月	3 ヵ月	4 ヵ月	5 ヵ月	22 ヵ月	34 ヵ月	
未接種	-	-	-	-	-	1	-	1
4 ヵ月	-	-	-	-	2	-	-	2
6 ヵ月	-	1	-	-	1	-	-	2
8 ヵ月	1	-	-	-	1	-	-	2
11 ヵ月	-	-	1	-	-	-	-	1
24 ヵ月	-	-	-	1	-	-	-	1
34 ヵ月	-	-	-	-	-	-	1	1
合計	1	1	1	1	4	1	1	10

998人 (94.3%), DPT 1 期 3 回目の接種が978人 (92.4%), DPT 1 期追加の接種が885人 (83.6%) であった。罹患者は10人 (0.9%) で、それぞれの罹患年齢は生後1ヵ月, 2ヵ月, 3ヵ月, 4ヵ月がそれぞれ1人, 生後5ヵ月が4人, 生後22ヵ月が1人, 生後34ヵ月が1人であった。

百日咳罹患児の DPT 1 期 1 回目の接種状況を見ると (表 2), 生後4ヵ月に接種した児2人が生後5ヵ月に百日咳を罹患していた。また, 生後34ヵ月に接種した児1人が百日咳を罹患していた。DPT 1 期 2 回目, 3 回目および追加後の罹患者はいなかった。

まとめ

DPT 1 期のワクチン接種割合は1回目～3回目までは90%以上であった。1回目のワクチン接種以前に罹った児が7人で, ワクチン接種後に罹った児が3人であった。

文 献

- 1) Rothman KJ, Greenland S, Modern Epidemiology Second Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 1998
- 2) 八幡裕一郎, 他, 九州農村医学会誌 9: 5-16, 2000
秋田県衛生科学研究所
八幡裕一郎 佐藤智子 鈴木紀行
秋田県福祉保健部 佐々木 梢 柳原 清

<特集関連情報>

各種抗菌薬に対する百日咳菌の感受性

百日咳は *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* の感染によって起こる急性呼吸器感染症であり, 特にワクチン未接種の乳幼児感染では重篤化しやすく注意を要する。百日咳患者は1981年秋から導入された改良 DaPT ワクチンの普及に伴い激減したが, 今なお, 小規模な流行¹⁾ や成人発症事例²⁾, 院内感染事例³⁾ などの報告もみられ, 感染者は想像以上に多いものと推定される。

1994年, macrolides 系抗菌薬である erythromycin (EM) に耐性を示す株が報告⁴⁾ された。EM は百日咳治療の第一選択薬と同時に予防薬として世界中で使用されている。耐性菌の増加は百日咳治療に大きな影響

Table 1 MIC₅₀, MIC₉₀ and MIC ranges of 11 antimicrobial agents tested by Etest

Antimicrobial agent	MIC (μg/ml)		
	range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Erythromycin	0.023-0.064	0.032	0.032
Clarithromycin	0.032-0.047	0.047	0.047
Azithromycin	0.023-0.064	0.032	0.047
Clindamycin	0.25-0.5	0.38	0.5
Tetracycline	0.125-1	0.5	0.75
Minocycline	0.064-0.19	0.125	0.19
Sparfloxacin	0.008-0.016	0.016	0.016
Ciprofloxacin	0.016-0.032	0.023	0.023
QPR/DPR ^{a)}	1.5-4	4	4
ST ^{b)}	0.094-0.25	0.125	0.25
Rifampicin	0.125-0.25	0.19	0.19

^{a)} Quinupristin/dalfopristin

^{b)} Sulfamethoxazole/trimethoprim

をおよぼすものと懸念される。本邦における百日咳菌の臨床分離株を対象とした薬剤感受性検査の報告⁵⁻⁷⁾ は少なく, 散見されるにすぎない。そこで, 今回我々 (百日咳サーベランス研究会*) は, 2001年～2002年に臨床材料から分離同定された26株を対象に薬剤感受性試験を行った。

薬剤は erythromycin (EM), clarithromycin (CAM), azithromycin (AZM), clindamycin (CLDM), tetracycline (TC), minocycline (MINO), sparfloxacin (SPFX), ciprofloxacin (CPFX), quinupristin/dalfopristin (QPR/DPR), sulfamethoxazole/trimethoprim (ST), rifampicin (RFP) の11薬剤を用いた。MIC の測定は Etest を用い Bordet-Gengou (BG) 寒天培地で行った。被験菌を BG 寒天培地で35°C, 2日間培養後, Trypticase soy broth に McFarland No.0.5 相当に懸濁, 菌液を滅菌綿棒で BG 寒天培地に塗布し, Etest ストリップを培地に配置した。培養は35°C, 好気培養 (湿潤環境) で行い, 3日間後に阻止帯の辺縁がストリップと交差する位置の目盛りを目視で判読し MIC とした。

Table 1 に各薬剤に対する MIC₅₀, MIC₉₀ および MIC range を示した。macrolides の MIC range は EM で0.023～0.064 μg/ml, CAM で0.032～0.047 μg

/ml, AZM で0.023~0.064 $\mu\text{g/ml}$ であった。CLDM, TC, MINO, SPFX, CPF, ST および RFP の7薬剤はすべて1 $\mu\text{g/ml}$ 以下で優れた抗菌活性を示し、中でもSPFXはMIC₉₀が0.016 $\mu\text{g/ml}$ と最も高い発育阻止効果を示した。また、QPR/DPRのMIC rangeは1.5~4 $\mu\text{g/ml}$ でありMIC₉₀は4 $\mu\text{g/ml}$ であった。

B. pertussis や *B. parapertussis* の薬剤感受性試験の標準法はなく、寒天平板希釈法やEtestが用いられている。Etestは特殊な機器を必要とせず栄養要求性や培養条件の厳しい菌種に対しても簡便にMICを測定できるため、臨床現場では大変有用である。近年、Etestによる*B. pertussis*のMIC報告⁸⁾も見られ、再現性、信頼性が確認されている。今回の我々の検討ではEM, CAM, AZMのMICがそれぞれ0.023~0.064 $\mu\text{g/ml}$, 0.032~0.047 $\mu\text{g/ml}$, 0.023~0.064 $\mu\text{g/ml}$ であり、この結果は渡辺ら⁵⁾、堀川ら⁶⁾、白土ら⁷⁾の成績とほぼ同等で、MICの大きな変動はみられなかった。海外でのHoppeら⁹⁾の報告はEM 0.008~0.5 $\mu\text{g/ml}$, CAM 0.008~0.12 $\mu\text{g/ml}$, AZM 0.008~0.12 $\mu\text{g/ml}$ と、我々の成績と比較するとやや広いMIC rangeを示したが、ほぼ同様の成績と考えられた。TC, MINO, SPFX および CPF に つい て も 国内、海外のMIC値とほぼ同じ成績で差は見られなかった。

今回の感受性検討結果より、わが国の*B. pertussis*の感受性成績は従来と同様にmacrolides, CLDM, TC, MINO, SPFX, CPF, RFP および ST 合剤に対して良好な感性を示し、米国で報告されたEM耐性株は検出されなかった。しかし、耐性菌の増加している今日、百日咳菌の薬剤感受性の推移を継続して調査していくことは重要であると思われた。

*百日咳サーベイランス研究会(全国88施設の小児科の先生方に参加して頂いております)

文 献

- 1) 大塚正之, 他, 日臨微誌 4: 229-232, 2002
- 2) Cherry JD, Dev Biol Stand 89: 181-186, 1997
- 3) 狩野孝之, 他, 感染症誌 75: 916-922, 2001
- 4) Lewis, K, et al., Pediatr Infect Dis J 14: 388-391, 1995
- 5) 渡辺 満, 他, 感染症誌 61: 79-86, 1987
- 6) 堀川和美, 他, 感染症誌 69: 878-883, 1995
- 7) 白土佳子, 他, 日臨微誌 7: 205-209, 1997
- 8) Wirsing C, et al., In program and abstracts of the 103rd General Meeting, American Society for Microbiology, Washington, D.C., abstr. C-081: p.75, 2003
- 9) Hoppe JE, Infection 26: 242-246, 1998

江東微生物研究所 大塚正之

<特集関連情報>

米国の百日咳の状況

近年、欧米諸国において百日咳の再興が報告されている。米国では近年の百日咳の再興を受けて詳細な疫学的調査が行われ、その結果、百日咳の制御方法の改善が必要と考えられている。本項では米国における百日咳の傾向とそれに対する対策を紹介する。

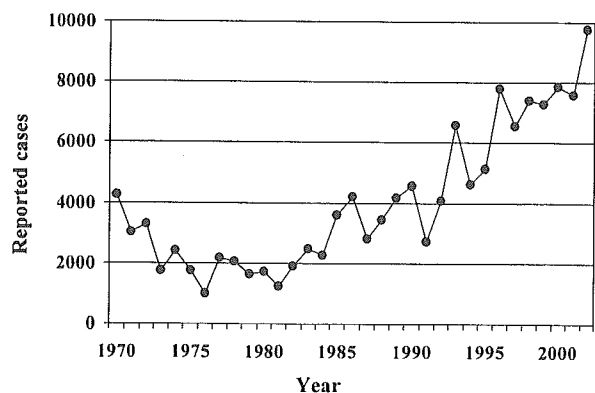
疫学

米国における百日咳のサーベイランスは主としてNational Notifiable Diseases Surveillance SystemとSupplementary Pertussis Surveillance System (SPSS)によって行われている。SPSSは百日咳患者の誕生日、発症日、ワクチン接種状況、検査データ、症状、合併症などを収集し、旧来のサーベイランスを補完することによって百日咳の動向把握を可能にしている¹⁾。米国の年間報告患者数は1930年代以前は16万人以上、死者5千人以上で小児の主要死因の一つであった。しかし1940年代に導入された百日咳ワクチンによって報告例は激減し、1976年に最低数1,010人を記録した。しかしその後、ワクチン導入前と同様の3~4年周期の流行を維持したまま徐々に増え続け、2002年には1964年以来最高の9,771人(3.4/100,000)を記録した(図)²⁾。近年の百日咳死者数は1996年には4人で、その後徐々に増加し、2000年には17人で、それらすべてが4月齢以下である²⁻³⁾。1996~2004年のデータによると、年齢別患者比率はワクチン接種が完了しない6月齢以下が35%、ワクチンが機能する0.5~6歳が4.2%、7歳以上が61%となっている⁴⁾。この結果はワクチンが有効であることを示す一方、接種後4~8年しか百日咳ワクチンの効果が持続せず、青年期以降で百日咳を発症しうることを裏付けている。

米国の百日咳ワクチン

米国では日本と同様、無細胞百日咳ワクチンが混合ワクチンとして使用されている。ワクチン接種は2, 4, 6および15~18月齢に行われ、その後、学校入学前の追加接種(school-entry dose)が行われる⁵⁾。接種の負担を減らすため、米国では3種混合ワクチン

図. 百日咳患者報告数の推移 米国1970-2002年



に Hib ワクチンを混合した 4 種混合, または B 型肝炎および不活化ポリオワクチンを混合した 5 種混合も使用されている⁶⁾。百日咳ワクチンの接種率は 94% 以上を維持している⁷⁾。

成人の百日咳

成人も百日咳菌に感染し, リザーバーとして機能することは広く認知されている。米国では 0.1~0.2% の成人が百日咳を発症し, そのうち 12~30% が典型的な症状を呈する⁸⁾。百日咳の流行を制御するためにはワクチンの効力が減弱している青年期以降の免疫が必要である。米国では将来に向けて 10 年周期のワクチン接種を検討している⁸⁾。7 歳以上への適用を認められた百日咳ワクチンは現在存在しないが, 昨年, 成分を減量した青年期以降の接種に耐える 3 種混合ワクチンの認可申請が提出された⁴⁾。

百日咳の検出に関する問題

CDC は報告された百日咳患者数および死者数は実在の数に比べて過少であると推察している^{1, 3-4)}。生後 4~6 カ月未満で百日咳菌に感染すると重篤な状態を引き起こすが, それは典型的な咳発作を呈さず, しばしば全身性疾患と診断されてしまう³⁾。一方, 青年期および成人における百日咳は珍しいものではないが, 百日咳の可能性が疑われるにもかかわらず適切な検査診断がされる頻度は高くはないと考えられる⁹⁾。百日咳はワクチンを接種された者でもまれに感染, 発症しうることで多く報告されている。しかし多くの場合その百日咳は軽症であることが多いため, 適切な診断がなされない。皮肉なことにワクチンによって典型的な百日咳は大きく減じたが, 上記のように症状から診断しがたい感染症として存在し続けている。一方で感度の高い検出法が存在しないという問題がある¹⁰⁾。百日咳菌の検出は培養の難しさから成功率が低い。PCR は培養に代わる検出法として有望だが, 抗菌薬使用などによりその検出率はやはり激減する。蛍光抗体による染色法は他菌種との交差反応が問題である。多くの血清学的診断法はワクチン接種による免疫と感染による免疫を区別できない。これらの問題を解決することは百日咳のより正確な診断, 検出のために必須である。

百日咳菌流行株の変化

CDC の調査によると, 百日咳ワクチン導入後, 米国の流行株分布に変化が見られる。*prn* および *ptxS1* 遺伝子の変異を指標とした解析では, ワクチン導入前は *prn1*, *ptxS1B* 型, ワクチン導入後は *prn2*, *ptxS1A* 型が主たる流行株であった。米国の全菌体ワクチンおよび一部の無細胞ワクチンは東浜株 (*prn1*, *ptxS1B*) から調製されており, これが流行株の分布変化に影響した可能性がある¹¹⁾。一方, PFGE パターンを指標とした解析でも同様にワクチン導入による流行株の変化が観測されている^{11, 12)}。これらは流行株の変化の監視が重要であることを示唆している。

考 察

米国や日本などの先進国では, 百日咳は多くの場合生命に危険を及ぼす疾患ではない。しかしワクチンによる免疫が成立していない新生児および乳児では百日咳はその典型的な症状を示さず重篤な経過をたどる。重症百日咳には効果的な治療方法がなく, 百日咳菌排出者との接触を防ぐことが唯一の防御手段となるが, 百日咳菌は防御免疫の減弱した成人に感染し存在する。米国では百日咳の再興を受け, 詳細な調査システムを構築し百日咳の活性を監視し続けている。米国の推奨接種は日本にはない学齢期前の追加接種を含んでいる。しかし同国の疫学調査はそれでも百日咳の制御は十分でないことを示唆し, 米国は成人へのワクチン接種を含むさらなる対策を考慮している。幸運にも日本では近年の百日咳の再興を示すデータは報告されていない。しかし欧米諸国に見られるこの動向を注視し, 同時に自国の百日咳の活性を詳細に監視することは日本の今後の百日咳制御に重要であると考えられる。

文 献

- 1) Tanaka M et al., JAMA 290: 2968-2975, 2003
- 2) MMWR Summary of Notifiable Diseases-United States, 2002. Published in 2004 for CDC, MMWR 51(53)
- 3) CDC, MMWR 51(28): 616-618, 2002
- 4) CDC, MMWR 54(03): 67-71, 2005
- 5) CDC, MMWR 53(01): Q1-Q4, 2004
- 6) National Immunization Program, <http://www.cdc.gov/nip/publications/pertussis/guide.html>
- 7) CDC, MMWR 53(29): 658-661, 2004
- 8) Orenstein WA, Clin Infect Dis 28(Suppl 2): S147-150, 1999
- 9) CDC, MMWR 53(06): 131-132, 2004
- 10) Watanabe M, Nagai M, Expert Rev Vaccines 2005 (In press)
- 11) Cassidy P, et al., J Infect Dis 182: 1402-1408, 2000
- 12) Hardwick TH, et al., EID 8: 44-49, 2002

シンシナティ大学医学部 渡辺峰雄

<速報>

大腸菌の新規 O 血清群 (O174~O181) に関する情報

大腸菌の O 血清群はこれまで 173 番目まで (ただし, 欠番として O31, O47, O67, O72, O93, O94, O122) 定義されていたが, 昨年, デンマークのコペンハーゲンにある血清学研究所 (Statens Serum Institute: SSI) において新たに 8 つ (O174~O181) の O 血清群の追加論文が発表された¹⁾ (次ページ表 1)。我々はこれらの新規 O 血清群の標準株 (次ページ表 1) を SSI から購入し, これらに対する抗ウサギ血清を調製