

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870567

研究課題名(和文) 遺伝子タイピングによる整形外科領域MRSA手術部位感染発症要因・感染対策の検討

研究課題名(英文) The analysis of the risk using genotyping and the effect of precaution about orthopedic MRSA surgical site infection

研究代表者

川村 英樹 (Kawamura, Hideki)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・特例講師

研究者番号：90647596

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：接触予防策強化と抗菌薬適正使用による感染対策開始により、整形外科領域MRSA SSI発生率は減少した。菌株の多くはSCCmec II型が半数を占め、他の型と比較し感染由来の比率が高かった。またパルスフィールド電気泳動法により院内伝播を評価したが、伝播菌株の大半はSCCmec II型であった。鼻腔保菌者の発症例の約半数は鼻腔株と創部検出株が同一遺伝子型であったが、除菌例で異なる遺伝子型がみられた。MRSAは遺伝子型により伝播要因が異なり、伝播予防策、周術期抗菌薬適正使用は感染対策上有効であった。今後特にSCCmec型等の遺伝子タイピングを組み合わせた伝播予防策の強化が有用な可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：MRSA is a frequent cause of orthopedic surgical site infections (SSIs). The approach comprising contact precautions for MRSA-positive patients and cefazolin-based antimicrobial prophylaxis stewardship in addition to active surveillance was associated with a significant decrease in the incidence of orthopedic MRSA SSIs. The prevalence of SCCmec II strains in the infection group was significantly higher than that in the colonization group. The most of clones associated with nosocomial transmission in this study were SCCmec II type. Preoperative MRSA active surveillance culture and decolonization were effective for precaution of SSI due to preoperative nasal isolates by endogenous origin of MRSA. However, several patients with after decolonization developed SSI by exogenous transmission. Standard precaution and appropriate wound care must be necessary for prevention of SSI and contact precaution combined with genotyping may be helpful in preventing orthopedic SSIs.

研究分野：感染制御学

キーワード：MRSA 手術部位感染 遺伝子タイピング

1. 研究開始当初の背景

整形外科手術は清潔手術であり、整形外科領域 SSI の発生率は 0.1-17.3%と報告され、黄色ブドウ球菌はその主要起炎菌の一つである。わが国では MRSA が黄色ブドウ球菌のうち 50 - 70%を占めており、骨関節領域感染症は難治化しやすいことが知られ、時に死亡にいたる重篤な敗血症をきたすこともある。整形外科領域に多い人工関節置換術などのインプラントを用いた手術では、その周囲に細菌によりバイオフィルムが形成され、抗菌薬や免疫系に対する抵抗性が高く難治化し、インプラントの抜去が必要となり患者に著しい ADL 障害をきたすことも多い。

MRSA は内因性・外因性含めさまざまな伝播経路が想定され、CDC の多剤耐性菌対策ガイドラインには菌の伝播防止のため、手指衛生をはじめとした標準予防策、耐性菌検出者接触時の接触感染予防策、耐性菌選択圧コントロールのための抗菌薬適正使用、および感染症を発症していない保菌者のスクリーニングを目的とした積極的監視培養がその骨子としてあげられている。

しかし、MRSA による整形外科領域 SSI に関する伝播要因や感染対策の効果に関する疫学的な研究は少ない。

2. 研究の目的

感染対策の有効性に関する評価を行い、鹿児島大学病院整形外科入院患者から得られた手術部位感染由来の MRSA 菌株および術前監視培養から分離・保存された菌株を用い遺伝子タイピングを行い、サーベイランスの疫学情報を組み合わせ検討し、同一遺伝子菌株の分離患者での共通要因を検索することで伝播経路の推定と新たな感染対策への応用を試みる。

3. 研究の方法

1) 感染対策の有用性に関する検討

当院整形外科では 2004 年から術前患者の鼻腔 MRSA 監視培養および陽性者に対しムピロシン鼻腔内塗布による除菌を行ってきたが、2008 年から鼻腔保菌者も含む MRSA 検出者に対する接触予防策強化とセファゾリンを中心とした術翌日までの術後感染予防抗菌薬投与による感染対策バンドルを開始した。

これら感染対策の有用性に関して、2004 年から 2007 年を前期、追加対策を開始した 2008 年から 2012 年までを後期とし、同一菌株の伝播イベント数と、感染対策評価項目として 6 か月ごとの整形外科病棟における手指消毒薬・抗菌薬との統計学的検討を行った。

2) MRSA 菌株の収集

臨床分離菌株を本院の院内感染対策として保存しており、これら保存菌株の中から、整形外科患者の感染由来株および鼻腔保菌株を用い検討を行った。

3) 遺伝子タイピングと同一菌株検出患者での共通項目検索

PFGE(パルスフィールド電気泳動)法を用いた菌間の類似度解析による、整形外科患者由来 MRSA 保存株の遺伝子パターン分類

収集された保存菌株を制限酵素 *Sma*I を用い切断断片の電気泳動バンドパターンを利用し遺伝子型決定を行うパルスフィールド電気泳動法により Tenover 分類を用いて菌株間の類似度によるパターン分類を行った。

菌株のクローン解析

・ SCCmec 型：MRSA の耐性遺伝子 *mecA* を保有する可動性染色体カセットであり、multiplex PCR 法を用い、菌株の SCCmec 型タイピングを行った。

- ・ *spa* 型：*spa* 遺伝子のシーケンスを行い、塩基配列の相違からインターネット上で公表されているデータベースを用いて解析を行った。当院での MRSA サーベイランスデータをもとに、入院 72 時間以前の検出例を持込例、それ以降の 72 時間以降の検出例を新規例として、持込例と新規例や感染症発症例・保菌例、さらに鼻腔・創部など由来検体の違いによるクローンの相違についても併せて検討を行った。また、同一菌株検出患者で入院期間などを解析し、同一菌株分離患者での共通要因を検索した。

4) 感染対策上有用な MRSA 遺伝子タイピング法の検討

PFGE は標準法であるが、時間・コストの負担が大きい。このため、アウトブレイクが疑われた事例で迅速にアウトブレイクの判断ができる遺伝子タイピング法について、特に multiplex PCR 法で遺伝子タイピングが可能な POT (Phage Open-Reading Frame) Typing 法の有用性について検討を行った。同一病棟で 4 週以内の MRSA 感染症 3 例以上発生をアウトブレイク疑い事例とし、PFGE 法と POT 法で遺伝子タイピングし、同一遺伝子型菌株の 3 例以上検出をアウトブレイクと定義し 2 法による判定を比較した。

5) 鼻腔保菌者での感染対策

当院の 2003 年以降における MRSA サーベイランスデータより、整形外科 6 例、他診療科 10 例の鼻腔保菌者での MRSA 感染事例を抽出し、PFGE 法により鼻腔株と感染株の遺伝子型の相違および除菌の実施、予防抗菌薬の種類等を解析して検討した。

4. 研究成果

1) 感染対策の有用性に関する検討

新規 MRSA 感染率は前期と比較し後期で有意に低下した(表 1)。

表 1 MRSA 検出率

	前期 (n=1333)	後期 (n=1966)	p value
保菌	45 (3.38%)	94 (4.78%)	0.07
新規感染	29 (2.18%)	19 (0.97%)	0.003
保菌例	2/45 (4.44%)	3/94 (3.19%)	0.52
非保菌例	27/1288 (2.09%)	16/1872 (0.85%)	0.002

術前鼻腔保菌者の感染率はそれぞれ有意な差を認めなかったが、非保菌者の感染率は後期で有意に低下した。

予防抗菌薬 3 日以上使用群は 2 日以下群と比較し前期(2.48% (28/1129) vs. 0.49% (1/204), $p = .049$)、後期(1.43% (14/978) vs. 0.51% (5/988), $p = .036$)ともに有意に感染率が高かった。しかし、術後感染予防抗菌薬 3 日以上使用率は前期 84.7% (1129/1333)から後期は 49.8% (978/1966)と有意に減少した($p < 0.001$)。

新規感染率は患者 1 日あたり手指消毒薬使用量($r = -0.68$, $p = .002$)と有意な負の相関を認めた。

このことから、MRSA 手術部位感染対策は監視培養だけでなく手指衛生・接触予防策・術後感染予防抗菌薬適正使用遵守を含めた予防策が有効であったと考えられ、これらをまとめ American Journal of Infection Control 誌に論文発表を行った。

2) 遺伝子タイピングと同一菌株検出患者での共通項目検索

1999年から2010年に検出された、感染症由来87菌株、鼻腔保菌由来95菌株、計182菌株で検討を行った。

PFGE法では66遺伝子型に分類され、SCC*mec*型別に検討を行った(表2)。

表2 SCC*mec*型別菌株数・PFGE遺伝子型数

SCC <i>mec</i> 型	菌株数			PFGE遺伝子型数
	総数	感染由来	鼻腔由来	
I	38	16	22	15
II	91	56	35	25
III	3	1	2	2
IV	50	14	36	24
計	182	87	95	66

院内型MRSAではSCC*mec* II型が、市中型MRSAではSCC*mec* IV型を持つものが多いとされている。今回の検討ではSCC*mec* II型が全体の半数を占め、他の型と比較し感染由来の比率が有意に高かった(61.5% (56/91) vs. 38.5% (35/91); $p < 0.001$)。SCC*mec* II型の25遺伝子型の内7遺伝子型が、*spa*型ではわが国のHA-MRSAの主流クローンであるNew York/Japanクローンで多いとされるt002型であり、SCC*mec* II型菌株のうち、68.1% (62/91)を占めた。

複数の菌株が存在する遺伝子型は15型(21.2%, 14/66)であり、SCC*mec* I型が1型(6.7%, 1/15)、SCC*mec* II型が11型(44.0%, 11/25)、SCC*mec* IV型が3型(12.5%, 3/24)とほとんどがSCC*mec* II型であった。これら遺伝子型が検出された患者の入院履歴を確認したところ、感染症発症例からの伝播、または共通の感染要因が考えられるケースはみられるものの、鼻腔保菌者から感染症発症者へ伝播が疑われる事例はなかった。4週間以内に同一菌株が入院患者で3例検出されたケ

ースをアウトブレイクとして検討をさらに行ったが、これに当てはまるケースは2005年と2008年にそれぞれ1事例(各3例の感染症発症例)あったが、この2事例で検出された菌株はSCC*mec* II型の同一遺伝子型であった。

これらの事から、SCC*mec*型の相違など、菌株の背景により、MRSAの伝播要因は異なると考えられた。SCC*mec* II型は院内の感染流行株になりやすく、鼻腔保菌株と感染株の主流は遺伝子型が異なること、鼻腔保菌株からの伝播リスクは少ない可能性が示唆された。

3) 感染対策上有用なMRSA遺伝子タイプング法の検討

当院での2006年から2011年における保存菌株を用い、整形外科と他の診療科事例を含む12のアウトブレイク疑い事例44菌株で検討した。44菌株はPFGE法で19パターン、POT法で16型に分類され、12事例中4事例はPFGE・POT法の2つでアウトブレイクと判定され、7事例は両法でアウトブレイクが除外された。このことから、POT法はPFGE法と同等の識別能を有しアウトブレイク判定に有用であると考えられ、Japanese Journal of Infectious Diseases誌に論文発表を行った。

4) 鼻腔保菌者での感染対策

鼻腔株と創部検出株が同一遺伝子型であった症例は16例中10例(62.5%)であった。ムピロシン塗布群での同一例の頻度は37.5% (3/8)であり、非塗布群の87.5% (7/8)と比較し有意に同一例が少なかった($p = 0.04$)。SSI発症予防抗菌薬の種類と遺伝子型の一致率とは有意な相関関係を認めなかった。

周術期のムピロシン塗布例では同一例の頻度は低下したことから、MRSAによるSSI予防対策として、術前の積極的

監視培養と除菌の重要性が示唆された。一方、除菌できた患者でも医療従事者による伝播と思われる外因性感染が起きていると考えられ、手指衛生や適切な創処置など基本的対策も重要であると考えられた。

まとめ

MRSA はその遺伝子型の違いにより伝播要因が異なること、一方、伝播予防策の実施、周術期抗菌薬適正使用は感染対策上有効であった。今後特に SCC_{mec} 型タイピングを組み合わせ、伝播リスクの高い遺伝子型にはより接触予防策を強化するなどの対策が有用である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

- 1) Kawamura H, Tokuda K, Imuta N, Kubota T, Koriyama T, Miyano H, Hashiguchi T, Kawano Y, Nishi J. Epidemiological Analysis of Nosocomial MRSA Outbreaks Using Phage Open-Reading Frame Typing in a Tertiary-care Hospital. *Jpn J Infect Dis*. 2016 Jan 8. [Epub ahead of print] (査読有)
- 2) Kawamura H, Matsumoto K, Shigemi A, Orita M, Nakagawa A, Nozima S, Tominaga H, Setoguchi T, Komiya S, Tokuda K, Nishi J. A bundle that includes active surveillance, contact precaution for carriers, and cefazolin-based antimicrobial prophylaxis prevents methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in clean orthopedic surgery. *Am J Infect Control*. 2016 Feb 1; 44(2):210-4. (査読有)
- 3) Setoguchi T, Kawakami H, Ishidou Y, Kawamura H, Nishi J, Yoshioka T, Kakoi H, Nagano S, Yokouchi M, Tanimoto A, Komiya S. Cut-off values of latent infection in patients with rapid migration following bipolar hip hemiarthroplasty. *BMC Musculoskeletal Disord*. 2016 Jan 19;17:37. (査読有)

- 4) 川村 英樹 臨床における整形外科領域での感染症-治療と予防から考える問題点-. *関節外科* 4 月増刊号. 2015; 34: 78-87. (査読有)
- 5) Tsuru A, Setoguchi T, Kawabata N, Hirotsu M, Yamamoto T, Nagano S, Yokouchi M, Kakoi H, Kawamura H, Ishidou Y, Tanimoto A, Komiya S. Enrichment of bacteria samples by centrifugation improves the diagnosis of orthopaedics-related infections via real-time PCR amplification of the bacterial methicillin-resistance gene. *BMC Res Notes*. 2015 Jul 3; 8: 288. (査読有)
- 6) Nagano S, Yokouchi M, Setoguchi T, Sasaki H, Shimada H, Kawamura I, Ishidou Y, Kamizono J, Yamamoto T, Kawamura H, Komiya S. Analysis of surgical site infection after musculoskeletal tumor surgery: risk assessment using a new scoring system. *Sarcoma*. 2014; 2014: 645496. (査読有)

[学会発表](計 8 件)

- 1) 川村 英樹. 整形外科領域の MRSA 感染制御. 第 31 回日本環境感染学会 平成 28 年 2 月 19-20 日. 国立京都国際会館 (京都府京都市)
- 2) Kawamura H, Arata K, Imagama I, Koriyama T, Kojyo T, Shigemi A, Tokuda K, Imoto Y, Nishi J. The Detection of Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* from Ulcer Is a Risk Factor of Amputation in Foot Infection with Critical Limb Ischemia after Revascularization. *IDweek 2015*. 7-11 Oct 2015, San Diego, USA.
- 3) 川村 英樹, 茂見 茜里, 折田 美千代, 中川 彩, 松元 一明, 小宮 節郎, 徳田 浩一, 西 順一郎. 積極的監視培養と手指衛生・接触予防策・術後感染予防抗菌薬適正使用遵守を中心とした整形外科領域 MRSA 手術部位感染対策の効果. MRSA フォーラム 2015. 平成 27 年 7 月 11 日. 京王プラザホテル(東京都新宿区)
- 4) 川村 英樹, 茂見 茜里, 松元 一明, 徳田 浩一, 西 順一郎. MRSA 非保菌者における整形外科領域 MRSA 手術部位感染発症リスクの検討. 第 63 回日本化学療法学

会 平成 27 年 6 月 4-6 日. 京王プラザホテル(東京都新宿区)

- 5) 川村 英樹、茂見 茜里、郡山 豊泰、折田 美千代、中川 彩、松元 一明、徳田 浩一、小宮 節郎、西順一郎. 術後感染予防抗菌薬の投与期間適正化は整形外科領域 MRSA 手術部位感染を減少させる. 第 27 回 日本外科感染症学会. 平成 26 年 12 月 4-5 日. 東京コンファレンスセンター(東京都江東区)
- 6) 川村 英樹. 整形外科領域感染症の臨床における問題点. 第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会. 平成 26 年 10 月 9-10 日. 城山観光ホテル (鹿児島県鹿児島市)
- 7) Kawamura H, Shigemi A, Matsumoto K, Koriyama T, Komiya S, Tokuda K, Nishi J. Epidemiological analysis of MRSA infection risk at orthopedic surgical sites in non-MRSA carriers. 54th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) 5-9 Sep 2014, Washington DC, USA.
- 8) Kawamura H, Shigemi, Koriyama T, Matsumoto K, Orita M, Nagano S, Setoguchi T, Komiya S, Tokuda K, Nishi J. Effect of Contact Precaution and Cefazolin-based Antimicrobial Prophylaxis Stewardship for Preventing Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Surgical Site Infections (SSIs) in Clean Orthopedic Surgeries. The 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). 10 – 13 May 2014, Barcelona, Spain.

〔図書〕(計 3 件)

- 1) 川村 英樹. 糖尿病性足感染症 感染症 最新の治療 2016-2018. 南江堂 2016 225-227
- 2) 川村 英樹. 院内・手術室内感染対策 今日の整形外科治療指針. 医学書院 2016 20-21
- 3) 川村 英樹. 敗血症性ショックの診療戦略 エキスパートの実践 敗血症性ショックにおける感染症の診断 鹿児島大学病院では. 医薬ジャーナル社 2015 33-37

6 . 研究組織

(1)研究代表者

川村 英樹 (KAWAMURA, Hideki)
鹿児島大学医学部・歯学部附属病院 特例
講師

研究者番号 : 90647596