

脳血管障害患者の入院する病棟における院内感染対策の検討についての研究

— MRSA のパルスフィールドゲル電気泳動法を用いた解析 —

吉谷須磨子¹・鍋倉 明美²・東 美智子³

要 旨 脳血管障害患者は高齢のため生体免疫機能が低下している。これらの患者がメチシリン耐性ブドウ球菌 (MRSA) に感染すると難治化しやすい。とりわけ、呼吸器系の感染は、喀痰や咳によって菌が拡散し、院内感染対策がとりにくい。このような患者が入院している病棟の汚染状況を調査し、感染防止対策を検討することにした。

H病院の内科病棟に入院する13名のMRSA感染者の病床環境を、スタンプ法・拭き取り法で菌を採取しMRSAを分離した。また、患者から分離したMRSA菌と合わせて25株をコアグラゼ型別・パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) を行った。

その結果、院内感染対策の課題が明らかになった。

長崎大医療技短大紀 12: 105-109, 1998

Key words : MRSA, PFGE, 脳血管障害患者, 環境調査, 呼吸器感染症

はじめに

近年、脳血管障害患者が入院している病棟では、メチシリン耐性ブドウ球菌 {methicillin-resistant Staphylococcus MRSA} が院内感染の起炎菌として問題となっている。脳血管障害を基礎疾患に持っている患者は、高齢者が多いため生体防御機能が低下した易感染宿主 {compromised host} になっていると考えられている。中でも脳血管障害患者は嚥下障害を伴うことが多いため低栄養状態になりやすい。一旦MRSAに感染すると致命的な感染になることも少なくない。とりわけ、MRSA感染による呼吸器合併症は、難治化しやすく、喀痰、咳によって菌が拡散しやすく、院内感染対策が困難になりやすい。

しかし、現実の対応は必ずしも十分とはいえない傾向にある。そこで、感染対策を見直し、看護者の再教育と環境の整備の徹底さでMRSAによる病棟内の汚染が防止できることを目指したいと考えた。

今回、H病院に入院している患者でMRSAが検出された患者を対象として、感染経路の追跡のために環境調査と疫学的な型別に加えて、パルスフィールドゲル電気泳動法 {PFGE} により、MRSAの感染の系統を検討した。

対象と方法

1) 調査対象

1998年7月から同年8月までの2ヶ月間にH病院の脳血管障害患者が入院している内科病棟でMRSAが検出されている患者13名を対象とした。(表1)

表1. 対象患者一覧

| 患者 | 摘要 | 病室名 | 年齢 | 病名 |
|----|----|-----|----|-----------|
| 1 | | 301 | 78 | 脳出血・肺炎 |
| 2 | | 302 | 64 | 脳梗塞・肺炎 |
| 3 | | 303 | 89 | 脳梗塞・肺炎 |
| 4 | | 306 | 50 | 脳幹部出血・DM |
| 5 | | 307 | 68 | 脳幹部出血・DM |
| 6 | | 〃 | 74 | 脳軟化症・肺炎 |
| 7 | | 308 | 91 | 脳軟化症・肺炎 |
| 8 | | 〃 | 77 | 脳室内出血術後肺炎 |
| 9 | | 338 | 78 | 脳出血・肺炎 |
| 10 | | 310 | 50 | 脳幹部出血・DM |
| 11 | | 〃 | 78 | 脳出血・肺炎 |
| 12 | | 〃 | 62 | 脳梗塞・肺炎 |
| 13 | | 〃 | 77 | 脳梗塞・痴呆 DM |

この患者が入院している汚染区域の病室の状況・清潔な白衣に着替えた後の4時間後の看護業務、診療後の白衣の汚染状況・患者の使用しているベッドのマットレス、シーツの汚染状況の分布と13名の尿および喀痰より分離されたMRSAの型別判定、パルスフィールドゲル (PFGE) により院内感染のの関連を見た。

2) 病床環境の調査方法

・検体の採取個所と採取の方法

<病室・サンダル>

汚染区域分けしている病室の入り口から患者のベッドまでで医療従事者がよく通ると思われる床をシードスワブ1号 (栄研) を滅菌生理食塩水で湿らせ、床面の50×

1 長崎大学医療技術短期大学部看護学科

2 本庄総合病院

3 青梅市立総合病院

50cmの（プラスチック枠内）拭き取り法で採取した。
 <白衣、ベッドのマットレス・シーツ>

調査当日着替えた白衣，とり変えたシーツ，患者の使用しているマットレスから TGSE 寒天平板培地（10cm² のフードスタンプ，日水製薬）を軽く押し付けるスタンプ法を使い当日の朝，着替えた白衣の4時間の看護業務後・診療後の試料を採取した。シーツ・マットレスも同様の方法で採取した。

<患者の検体>

脳血管障害患者が呼吸器合併症を起こしている検査の結果 MRSA が検出している患者13名の喀痰と尿の採取について医師の指示を受け，MRSA に感染している患者の検体を直接菌の排出部位から採取した。

3) MRSA のコアグララーゼ型別・パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) の検討

H病院の内科病棟の一般環境から分離した MRSA と直接患者の検体から分離した MRSA について検討した。
 <コアグララーゼ型別>

ブドウ球菌コアグララーゼ型別用免疫血清（デンカ生研）マイクロプレート法により実施したもので型別を見た。

<パルスフィールドゲル法 (PFGE)>

MRSA の染色体をパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) でゲノムタイピングを行い14本前後のバンドで識別されたものの系列をみた。

調査結果

1) 病室環境の実態調査

・マットレスとシーツの MRSA の検出状況

スタンプ法で試料を採取し，MRSA の分離をした8病室のマットレスとシーツの MRSA の分離状況をに示した。(表2) 8病室のうち5病室のマットレスから MRSA が0~100%の頻度で分離された。菌数は100cm²に1~9コロニーであった。そこでマットレスと関連の深いシーツの MRSA による汚染状況の分離を試みた。マットレ

表2. マットレス・シーツの表面の MRSA による汚染状況
 コロニー数/100cm²

| 対象者 | 摘要 | 病室名 | スタンプ法 | |
|-----|----|-----|-------|-----|
| | | | マットレス | シーツ |
| 1 | | 301 | 4 | 1 |
| 2 | | 302 | 1 | 0 |
| 3 | | 303 | 3 | 34 |
| 4 | | 306 | 0 | 0 |
| 5 | | 307 | 0 | 0 |
| 6 | | 〃 | | |
| 7 | | 308 | 3 | 0 |
| 8 | | 〃 | 9 | 0 |
| 9 | | 338 | | |
| 10 | | 310 | 3 | 8 |
| 11 | | 〃 | 0 | 0 |
| 12 | | 〃 | 0 | 0 |
| 13 | | 〃 | 0 | 0 |

スから MRSA が分離されたベッドからは，シーツからは0~25%の確率で MRSA が分離された。

白衣やリネン類から菌が落下しやすい床，サンダルの汚染状況を拭き取り法で試料を採取し同じように MRSA を分離した。各病室の床の汚染度は，0~75%であった。(表3)

表3. 床・サンダルの MRSA による汚染状況
 コロニー数/100cm²

| 対象 | 摘要 | フキトリ法 | |
|-----|----|-------|------|
| | | 床 | サンダル |
| 301 | | 7 | 0 |
| 302 | | 0 | 0 |
| 303 | | 1 | 49 |
| 306 | | 35 | 0 |
| 307 | | 13 | 0 |
| 308 | | 11 | 11 |
| 338 | | 0 | 2 |
| 310 | | 2 | 16 |

床の菌数は35~1コロニーであった。サンダルの底も同じように拭き取り法で試料を採取し MRSA による汚染を見たところ，8病室のうち4病室のものより MRSA が分離できた。今回の調査による床の MRSA の検出状況とサンダルの汚染が必ずしも関連があるとは言いが，個室よりは2人以上の部屋のサンダルに汚染の頻度は高かった。

<診療・看護業務後の白衣の汚染状況>

MRSA に感染している患者は，汚染区域分けされ入院している。この病棟は60床である。そのうち，個室5床，2~4床の病室が3部屋で8床が汚染区域分けされていた。朝，着替えた白衣で4時間診療・看護業務後の MRSA 汚染の実態をスタンプ法で試料を採取した。これは，MRSA に感染している患者に直接に接触した白衣の汚染度を見るために，調査した当日の26枚の白衣から試料を採取したところの2枚から MRSA が分離された。(表4)

表4. 白衣の MRSA による汚染状況
 コロニー数/100cm²

| 対象者 | 摘要 | スタンプ法 | | |
|-----|----|-------|-----|------|
| | | 予防衣 | 看護衣 | 医師白衣 |
| 1 | | 0 | 0 | 0 |
| 2 | | 0 | 0 | 0 |
| 3 | | 0 | 0 | 0 |
| 4 | | 0 | 0 | 0 |
| 5 | | | 0 | 0 |
| 6 | | | 0 | 0 |
| 7 | | | 0 | 0 |
| 8 | | | 0 | 0 |
| 9 | | | 3 | 1 |
| 10 | | | 0 | |
| 11 | | | 0 | |
| 12 | | | 0 | |
| 13 | | | 0 | |

2) 病室環境と臨床材料から分離された MRSA の検討
 <MRSA のコアグララーゼ型別>

患者から直接採取された試料と病室環境から分離された MRSA 25 株についてコアグララーゼ型別の検査の依頼をしたところ、すべての株がコアグララーゼ II 型であった。(表 5)

表 5. MRSA 染色体 DNA パルスフィールドゲル電気泳動法による制限酵素切断パターンとコアグララーゼ型別

| Lane, No | 検体名 | PFGE, パターン | コアグララーゼ型別 |
|----------|---------|------------|-------------|
| 1 | 301床 | D | コアグララーゼ 2 型 |
| 2 | 301ベット | D | 〃 |
| 3 | 301シーツ | D | 〃 |
| 4 | 308サンダル | E | 〃 |
| 5 | 338サンダル | D | 〃 |
| 6 | 看護婦白衣 | A | 〃 |
| 7 | 301カクタン | D | 〃 |
| 8 | 303カクタン | F | 〃 |
| 9 | 307カクタン | D | 〃 |
| 10 | 307カクタン | A | 〃 |
| 11 | 308カクタン | A | 〃 |
| 12 | 310カクタン | D | 〃 |
| 13 | 338ニョウ | D | 〃 |
| 14 | 308カクタン | G | 〃 |
| 15 | 医師白衣 | D | 〃 |
| 16 | コントロール株 | - | |

<パルスフィールドゲル (PFGE) によるゲノムタイピング>

MRSA の染色体を PFGE によるゲノムタイピングを行い、同一 DNA のタイプにより感染経路を特定しようとした。14 本前後のバンドが識別できた。これは、同じ泳動パターの株を 1 つのゲノムタイプとしてまとめる方法である。今回分離された MRSA 25 株は 7 型の PFGE パターンに分けられた。(表 5)

各々 PFGE パターンについての検討を加えるため、患者からの分離株が一般環境にどのように拡散しているかを見るために、その系列をみた。(表 6)

まず、隣接病室毎に見た時 PFGE の A パターンは、307、308 室の患者から分離された同パターのものがその日の担当看護婦の白衣に付着していた MRSA の PFGE パタ

ン A と一致していた。同様に PFGE パター D についても 338・301 病室の隣室患者の尿と喀痰から分離された PFGE タイプと白衣のタイプが一致していた。(図 1・図 2) PFGE タイプの E タイプは 307・308 の床、サンダル・マットレスから分離された MRSA 株であった。し

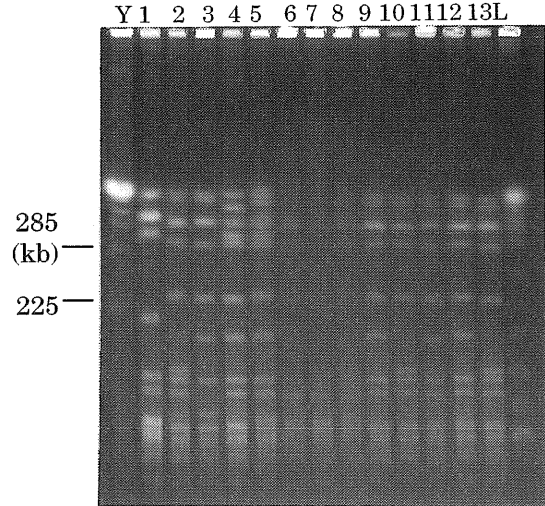


図 1. MRSA 染色体 DNA パルスフィールドゲル電気泳動法による制限酵素切断パターン

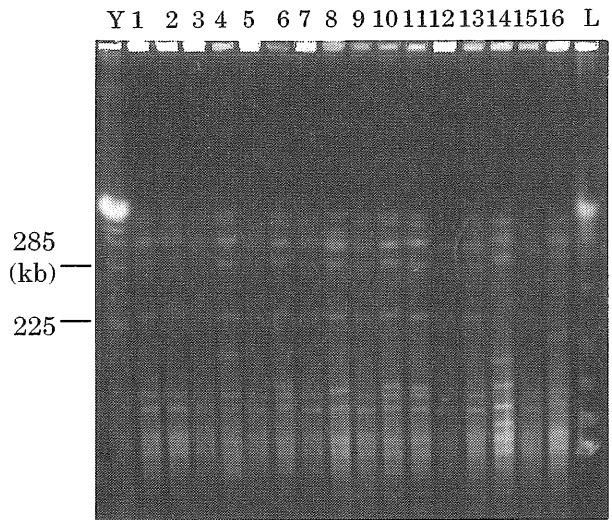


図 2. MRSA 染色体 DNA パルスフィールドゲル電気泳動法による制限酵素切断パターン

表 6. MRSA の PFGE パターン別分布状況

数字は病室番号；
 文字は細菌付着部位

| パターン | A | B | C | D | E | F | G |
|-------|-------|-----|-----|------|---------|-----|-----|
| 対象者 | | | | | | | |
| 床 | 306 | 310 | | 301 | 307.308 | | |
| サンダル | 303 | | | 338 | 308 | | |
| シーツ | | | 310 | 301 | | | |
| マットレス | 308 | | 310 | 301 | 308 | | |
| 白衣 | 看護婦白衣 | | | 医師白衣 | | | |
| 患者 | 307 | | | 301 | | 303 | 308 |
| | 308 | | | 307 | | | |
| | | | | 310 | | | |
| | | | | 338 | | | |

かし、患者からの分離株はこのタイプを示さなかった。F・Gタイプは、患者から分離した MRSA の株のタイプのみで一般環境からの分離はされなかった。

考 察

今回調査したH病院は、郊外の農村と中小の町工場の地域にある病院である。人口が高齢化し、入院患者も脳血管障害の患者が多くなってきている。嚥下障害、運動機能障害などのため入院患者の大部分は生活行動の自立が低く、食事・排泄・体の移動、運動のセルフ・ケアができない患者が多く生活している。又、重症度も高く、呼吸の自立が低く、人工呼吸器の装着患者、気管カニューレの挿入患者も入院しているため常に、呼吸器感染が起きやすい状況にある。こうした状況の病棟に入院している患者の院内感染の追跡のため今回の調査をした。今回の調査の結果を基にして院内感染対策を見直し、看護体制を整えるための検討ができた。まず、一般環境としてのベッドのマットレスとシーツの MRSA の汚染は、高い確率に及んでいることが判明した。しかもシーツの陽性率とマットレスの汚染がかなり関連がある事が示された。嶋森は¹⁾シーツからの「裏面への細菌の移動は3日でおきる。」としており、今回の調査でも、シーツから MRSA が分離されたベッドからは、高い確率で MRSA が移動してきたことが推測できる。この事を防止するには、シーツを3日で交換するか、もしくはシーツからマットレスへ細菌を透過させないため不織布で覆う方法が考えられる。

田口は²⁾病院の一般環境について検討する時は、床を中心に調べる事により、比較的感染経路の把握が出来るとしている。今回のH病院の場合は、MRSA 患者の病室から高い確率で MRSA が分離できた。同時に病室の入り口に置いているサンダルにも MRSA の汚染が認められたので床とサンダルの清掃と消毒を徹底するため清掃業者への指導をする必要がある。一般環境菌としての MRSA 菌の分布が患者の咳や痰として排出した MRSA 菌とどのように関連しているかを検討するために DNA のタイプを調べて見た。そのためとしてのパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) は、ゲノム DNA の精製に伴う物理的切断を受けないで染色体の制限酵素断片長を比較できるため、正確なゲノムタイピングをおこなうことができるかとされている。しかし、一方では点変異や短い欠失、挿入のような子細な違いを検出することはできないので系列のタイプ分類は、PFGE では十分ではないともいわれている。そうであっても、今回の調査では、一般環境菌、患者から分離した MRSA の DNA のゲノムタイピングで感染経路についての看護業務の改善点と

しての項目は導きだせたと考えている。それはベッドの周辺の汚染の実態が、患者から排出された菌と DNA の系列パターンが2系列で一致したことによる。そのことによって、日常の看護業務としては、清潔の保持、予防衣の着用の励行、看護助手・清掃業者の指導など院内感対策のリーダーとしての役割を果たす責任体制を明確にする必要があることが示唆された。特に、病室の入り口に置いているサンダルの汚染と床の汚染については、MRSA の保菌者の歩行、医療従事者の履き物によって菌の拡散を起こす危険性がある。それを防止する対策の徹底をすることである。

文 献

1. 嶋森好子, 高峰道子, 小野敏子, 古瀬浩介: リネン類を介した院内感染防止法の検討, 日本看護科学研究学会誌, 16 (2) 142-143, 1996.
2. 田口文章・滝 龍雄・奥田舜治・青木正人他: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌を主とした院内感染防止対策に関する提言, 日本細菌学雑誌, 47 (6) 767-775, 1992.
3. 吉谷須磨子: 院内感染対策に関する研究—抗菌繊維の予防衣の除菌効果—, 昭和医学会雑誌, 55 (5) 468-472, 1995.
4. American Hospital Association Committee on Infections Within Hospitals Statement on microbiologic sampling in the hospital, 48, 125-126, 1974.
5. 桜田京子・根本優子・金子 克: AP-PCR 法によるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌ゲノム DNA フィンガープリントの検討, 岩手医科大学歯学誌, 20, 175-182, 1995.
6. 小林昌彦・根本優子: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌のパルスフィールドゲル電気泳動法および DNA によるゲノムタイピング, 感染症雑誌, 71, 620-627, 1997.
7. 伊藤まゆみ・古川寿子・叶谷由佳・吉谷須磨子: 院内感染防止対策のためのマニュアル 看護部門, 11 (1), 49-54, 1998.
8. 吉谷須磨子・国見純子・井上織恵・伊藤まゆみ・古川寿子・東美智子: 高齢で難治性の MRSA に感染している患者の院内感染対策, 特別研究及び学術, 科学研究抄録集, 9-10, 1998.
9. 深山牧子・稲松孝思: 老年者における MRSA の感染の現状, 臨床と微生物, 15, 174-177, 1988.
10. 島田 馨: よくみられる免疫機能低下状態と感染症—老年者の感染症の病態—, Medicina, 22, 2002-2005, 1995.

The study of investigation for measures to avoid hospital infection in the ward which has patients with cerebral vascular disease
—The analysis of MRSA with electrophoresis—

Sumako YOSHITANI¹, Akemi NABEKURA² and Michiko HIGASHI³

- 1 Department of Nursing, The School of Allied Medical Sciences, Nagasaki University
- 2 Department of pediatrics, Honjou General Hospital
- 3 Department of pediatrics, Oume General Hospital

Abstract patients with cerebral vascular disease are so aged that their immune system are falling. If these patients are infected with methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA), it is hard for them to cure. In particular, if they have respiratory infection, it is difficult for us to avoid hospital infection. Because MRSA prevails with sputum and cough. So we decided to investigate a state of contamination in a ward where these patients were and to examine how to avoid hospital infection.

There were thirteen patients who were infected with MRSA in the ward of internal medicine of H hospita. We collected bacterium from surroundings of these patients' beds with stamping and wiping them out. And we isolated MRSA from them. We also compared MRSA with twenty -five strain which was isolated from patients and carried out the experiment of coagulase type electrophoresis. As a result, we made it clear that we faced the problem of how to avoid hospital infection.

Bull. Sch. Allied Med. Sci., Nagasaki Univ. 12: 105-109, 1998

Key Words : MRSA, PFGE, patients with cerebral vascular disease, investigation of surroundings, respiratory infection or infection of respiratory