原 著

多剤耐性黄色ブドウ球菌の患者側、細菌側および 投与薬剤側の多因子によるクラスター分析

国立下関病院外科¹⁾, 九州大学第1外科²⁾

吉 田 順 一¹⁾²⁾ 長 田 孝 義¹⁾ 田 中 雅 夫²⁾

消化器外科の患者における多剤耐性黄色ブドウ球菌の院内伝播について検討した。32名の患者側、総計204株の細菌側および投与薬剤側の多因子についてクラスター解析を加えた。その結果、第1・2世代セフェム、ペニシリン系およびアミノグリコシド剤がクラスターを形成し、それと耐性薬剤数が次のクラスターとなった。菌検出まで使用した薬剤の平均日数はいずれの種別も5〜9日であった。

以上より消化器外科周術期に第1・2セフェム、ペニシリン系剤などが菌の高度耐性化に関与した可能性が示唆され、これらの予防的使用も短期間にすべきと思われる。

索引用語: multi-drug resistance, *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant, gastroenterologic surgery

はじめに

多剤耐性黄色ブドウ球菌はその「多剤」の定義により幅があるが、ほぼmethicillin resistant *Staphylococcus aureus* (以下、MRSAと略記)に相当する概念である。当院ではメチシリンに限らず、多種の抗生物質に耐性の黄色ブドウ球菌に対して臨床上の重要性を認識し、その全株に感受性試験を行ってきた。

一方、細菌疫学の新しい手法として、細菌の生化学的特性を用いて多数の株の相同性を統計学的に評価するためにクラスター分析を行う場合がある^{1)~3)}。クラスター分析は、多数の因子や項目について相互間の関連(類似度)を定量化し、似たもの同士をかたまり(クラスター)に集める手法である。類似度は、相関係数あるいは*i*次元のEuclid距離などを用いる。相関係数はその絶対値が大きいほど、また距離の場合はその値が小さいほど2要素間での類似度が高い。クラスター化の方法としては、階層的あるいは非階層的な方法の2つに大別される。前者では樹形図による段階的階層を構成し、第何層を用いるかによりクラスター数が決まる。非階層的分類ではクラスター数を定めてその数の群に分類する⁴⁾。今回は、初回検出株について段階的階層による方法を採用する。

そこで過去8年間の消化器外科の入院患者で多剤耐

性黄色ブドウ球菌が分離された例について因子間と菌株間のクラスター分析を行った。

対象と方法

1985年1月から1992年12月まで、国立下関病院の外科病棟で多剤耐性黄色ブドウ球菌を検出した消化器外科患者32名(男性24名、女性8名)を対象とした。検出した当日の感染症の有無については、検体の由来する臓器の炎症にて体温が38.0℃以上ある場合を感染症ありとした。なお多剤耐性黄色ブドウ球菌の定義については他の報告⁵⁾に詳述しているが、簡略には4系統以上の抗菌剤に耐性の菌株を示す。

調べた因子は3群に分類した。

(1) 薬剤の因子として、ペニシリン系、第1・第2・第3世代・その他のセフェム、アミノグリコシド、フォスホミシン(以下PC, C1, C2, C3, CX, AG, FOMと略記)各剤について、菌検出までの経静脈的投与総量(g)である。CXにはモノバクタム系とカルバペネム系剤を含めた。なお、MRSAに特異的な薬剤(arbekacin, vancomycin)は使用されなかった。

(2) 細菌の面では、初回検出菌に関しては次の因子を分析した。つまり21剤に対する感受性検査⁶⁾における耐性薬剤の数、生化学型⁶⁾が特異な3つの型(736672, 736673, 736652)であるかどうか、多剤耐性黄色ブドウ球菌が検出された検体が膿であるか否か、の各因子である。21剤の薬剤は次の通りであり、()

内は略称である。

- i) chloramphenicols: chloramphenicol (CP)
- ii) aminoglycosides: gentamycin (GM), amikacin (AMK)
- iii) β -lactams: ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), penicillin-G (PCG), cefazolin (CEZ), cefmetazole (CMZ), cefotiam (CTM), cefaclor (CCL), ceftizoxime (CZX), cefmenoxime (CMX), cefotaxime (CTX), latamoxef (LMOX), cefotetan (CTT)
- iv) macrolides: erythromycin (EM)
- v) sulfas: sulfamethoxazole と trimethoprim の合剤 (ST) ディスク

- vi) polymyxins: colistin (CL)
 - vii) tetracyclines: minocycline (MINO)
 - viii) naphthidines: nalidixic acid (NA)
 - ix) new quinolones: ofloxacin (OFX)
- なお検出されたすべての菌株についてのクラスター分析では、21種の薬剤と18種の生化学検査のすべての判定を入力した。

(3) 患者側では、年齢、性別、菌検出時に感染症ありと判定されたか否か、そして1985年1月起算の菌検出までの月数を求めた。

以上の因子について、連続量はそのままの値を、離散 (dichotomous) データは0, 1の値を用いた。薬剤の総量は正規分布に近づけるため、平方根変換をした。実際のクラスター分析では、初回検出の32株については統計解析ソフトウェア BMDP (カリフォルニア大学, 米国)⁴⁾の1Mを用い、また検出されたすべての株に対しては BMDP 3Mを用いた。

連続量の記述統計量として、平均値±標準誤差を用いた。

結 果

[1] 概要

多剤耐性黄色ブドウ球菌を検出した消化器外科患者32名の内訳は、担癌症例が65.5%を占めた(表1)。年齢は69.8±3.0歳であった。

全例が手術を受け、術後に多剤耐性黄色ブドウ球菌を検出していた。有症例は18名(56%)であった(表2)。検体別では膿が最も多く26名(81%)から、次いで痰が多く16名(50%)から菌がえられた。便からも多剤耐性黄色ブドウ球菌が2名(6%)において検出された。

多剤耐性黄色ブドウ球菌の全株数は204であり、生化学型は全部で41種であった。ここでコード736652、

表1 多剤耐性黄色ブドウ球菌陽性の消化器外科患者の臓器別内訳

臓器	悪性疾患	全疾患
食道	2	4
胃	8	8
小腸	1	2
肝	3	3
胆道	0	6
膵	1	2
大腸・直腸	5	5
腹膜	0	2
計	20 (65.5%)	32 (100.0%)

表2 多剤耐性黄色ブドウ球菌陽性の患者の一覧

No.	年齢/性	株数	膿	腹水	便	痰	血液	胆汁
85 a	59/M	8	○			○		
85 b	55/F	1	○					
87 a	52/M	6	○			○		
88 a	62/M	3	○					
88 b	55/M	8	○			○		
88 c	81/M	3	○			○		
88 d	75/M	8	○			○		
88 e	54/M	1	○					
88 f	67/F	3				○		
88 g	67/M	13	○			○		
89 a	72/M	4	○					
90 a	65/M	1	○					
90 b	89/M	4	○					
90 c	80/M	4				○		
90 d	82/M	19	○			○	○	
90 e	65/M	5	○			○		
90 f	42/M	1	○					
91 a	74/M	1	○					
91 b	83/F	5	○			○	○	
91 c	85/M	2	○				○	
91 d	90/M	4	○					
91 e	78/M	4	○					
91 f	85/M	7				○		
92 a	17/M	26	○		○		○	
92 b	72/M	12	○					
92 c	74/F	10	○	○				
92 d	80/F	9		○				○
92 e	94/F	5				○		
92 f	83/M	6	○		○	○		
92 g	60/M	12	○			○		
92 h	42/F	2	○					
92 i	80/F	7				○		

注：○，1株以上の検出

736672, 736673の3種の型が全41種の中で7.3%であるにも関わらず、株数ではこれらのコードをもつ株が全

表3 多剤耐性黄色ブドウ球菌の発生までに使用された抗生剤の種類と発生件数

抗生剤	発生件数
ペニシリン系	8
セフェム系	
第1世代	7
第2世代	7
第3世代	13
その他	15
アミノグリコシド系	10
ホスホミシン	2

注：重複を許して算入しており，合計が32人より越える

表4 多剤耐性黄色ブドウ球菌が初回検出された32例
(a) 数値データの結果

因 子	平均±標準誤差	
年齢	69.8±3.0	歳
耐性薬剤数	14.7±1.5	剤
1985年1月から菌検出までの月数	62.6±22.9	月
菌検出までに使用された薬剤総量		
アミノグリコシド	0.60±1.68	g
ペニシリン系	5.72±16.09	g
第1世代セフェム	6.72±17.91	g
第2世代セフェム	1.69±3.99	g
第3世代セフェム	11.90±19.30	g
その他のセフェム	7.24±8.66	g
ホスホミシン	0.41±1.64	g

(b) クラスタ分析による樹系図。近い分枝は高い相関を示す。

体の29%を占めた。

[2] 基本的な統計

まず多剤耐性黄色ブドウ球菌発生までに使用された

抗生剤の種類はCX, C3, AGがおのおの15件, 13件, 10件と多く, 次いでPC, C1, C2がおのおの8件, 7件, 7件であった(表3)。

[3] クラスタ解析

初回検出の計32株についてクラスタ分析を行った。その結果を, 相関が高い因子同志から分枝が近くなる樹形図に表して, 各因子の平均値とともに示す(表4)。まずAG総量と通算月数の相関が強く, 対象期間の初期にAGが多く使われたことを反映した。次にこのクラスターはPC, C1の総量と, それに続いてC2総量とクラスターを作り, 初期にPC, C1, C2, AGがよく使われたことを示した。このクラスターに対して感受性薬剤数と性別とがなすクラスターは相関が高かった。すなわち初期に各剤が頻用され, その時感受性があった薬剤が耐性を獲得し, 後期に感受性薬剤数が減少して高度耐性化を進めたと解釈される。

一方C3, CX, FOMの各総量は他の因子と相関が低かった。患者の年齢は検体の膿性と相関が高く, 高齢であるほど痰などの非膿性の検体が多かった。

[4] 薬剤の投与日数

薬剤の種類別に, 投与があった日数を通算し平均するとPC(8.6±6.8日, C1(8.8±6.0日), C2(4.8±1.5日)の平均投与日数は5~9日である一方, C3(9.2±5.1), CX(7.5±2.8)は平均8~9日であり, 総じて約1週間であった。

考 察

今回の分析では1990年以降の菌株に対しては, MRSAスクリーニング培地(oxacillin)に接種してすべてMRSAと判定された。さらにMRSAスクリーニングに用いられるceftizoxime剤に対して全株耐性であったので, 対象株すべてがMRSAである可能性があった。一方, oxacillin培地の結果MRSAと判定されても今回の多剤耐性黄色ブドウ球菌の基準を満たさない場合があった。そこで, 今回の表現としては「多剤耐性黄色ブドウ球菌」を用いる。

細菌疫学の文献では, 場合の数で多くとも10程度のコアグラゼ型やファージ型⁷⁾による分析からきわめて可能性が多い遺伝子⁸⁾⁹⁾による分析まで報告されている。前者の指標は簡便であるが粗雑であり, 後者は科学的であるが人手と経済面で現実性に乏しい。今回の生化学と感受性による指標は, 簡便ながら²³⁾通りの多様性に基づきクラスタ分析を行っているの, 実際的かつ科学的であると思われる。

クラスタ解析は多因子分析の1つであるが, いま

だ国内ではなじみが薄い。外国文献では、主に疫学領域でこの解析が用いられている¹³⁾。今回、多剤耐性黄色ブドウ球菌の発生・伝播について患者側・細菌側および投与薬剤側の多因子について分析するためにクラスター解析を用いた。この方法では、t検定などのように帰無仮説を一定の危険率で棄却する場合と異なり、多因子の相対的な関係を問題にする。たとえば動物の歯列の計測などの表現型をクラスター分析すると種の分類と一致する結果が得られる⁴⁾。したがって多剤耐性黄色ブドウ球菌の clone が如何に集中発生・伝播しているかの指標となりうる。

今回、感受性薬剤性と性別の2因子のクラスターは、AG, PC, C1, C2各総量と次のクラスターを形成した。つまり、これらの薬剤の使用と耐性化が進んだこととの関連が示された。C3, FOMの各総量については上記のいずれの因子とも相関が低く、これらは独立の要因であった。一方、基本的な統計表(表3)からもPC, C1, C2, AGが多剤耐性化の一因となったことが示唆された。

しかしながら過去には当院からの報告で、C3, CXなど広域スペクトラム剤が多剤耐性黄色ブドウ球菌の発生を促した可能性を述べた⁵⁾。これはすなわち、消化器外科症例が入院した一般外科病棟においてより、隣接する特殊外科病棟において多用されたC3, CX薬剤の分析から推論したものであった⁵⁾。それゆえ、他病棟から多剤耐性黄色ブドウ球菌が伝播した可能性は残るが、当病棟に関してはPC, C1, C2, AG各薬剤が多剤耐性黄色ブドウ球菌の多剤耐性化の一因となったことが推察される。

MRSAの発生についても広域スペクトラム抗生物質の関与が議論されている¹⁰⁾が、今回のように第1・2世代セフェム剤であってもその使用により多剤耐性黄色ブドウ球菌の耐性化を進める可能性がある。どの薬剤も予防投与は再考が必要であろう。例えば1970年代から唱えられているように、術前から薬剤の予防的投与を開始し、術後は数日間の投与に限るという方式¹¹⁾¹²⁾も一法であろう。今回のデータでは薬剤投与がすべての薬種で5～9日であったので、今後は術直前から開始し3～4日間のみ投与する方法を実施すべきであろう。

そこでセフェム剤ならばどれを予防投与に用いるかについては、患者の常在菌とその感受性の評価を先行させて判断すべきと思われる。これは最近、本邦各地の病院からMRSAが検出されている⁵⁾¹⁰⁾からで、患者

入院時の常在菌のスクリーニングが望まれる。

この論文の主旨は第43回日本消化器外科学会総会(1994年、東京)にて発表した。

文 献

- 1) Musser JM, Schlievert PM, Chow AW, et al: A single clone of *Staphylococcus aureus* causes the majority of cases of toxic shock syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 225—229, 1990
- 2) Helm D, Labischinski H, Schallehn G, et al: Classification and identification of bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy. *J Gen Microbiol* 137: 69—79, 1991
- 3) Kotilainen P, Huovinen P, Eerola E: Application of gas-liquid chromatographic analysis of cellular fatty acids for species identification and typing of coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 29: 315—322, 1991
- 4) Dixon WJ: BMDP statistical software manual. vol 2. University of California Press, Berkeley, 1988, p1—1234
- 5) 吉田順一, 長田孝義, 山崎定次他: 当院における多剤耐性黄色ブドウ球菌の検出とその感染症の動向. *日臨外医会誌* 54: 287—293, 1993
- 6) 日水製薬会社編: ID Test SP-18. 日水製薬, 東京, p1—193
- 7) Georges-Courbot MC, Wachsmuth IK, Bouquety JC, et al: Cluster of antibiotic-resistant *Salmonella enteritidis* infections in the Central African Republic. *J Clin Microbiol* 28: 771—773, 1990
- 8) Soto A, Pitcher DG, Soriano F: A numerical analysis of ribosomal RNA gene patterns for typing clinical isolates of *Corynebacterium* group D2. *Epidemiol Infect* 107: 263—272, 1991
- 9) 高橋政弘, 成沢富雄, 小棚木均他: メチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の外科病棟内感染の解析とMRSAの毒素産生性. *日外会誌* 91: 1554—1559, 1990
- 10) 花谷勇治, 蓮見直彦, 浅越辰男他: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌による消化器術後感染症の現状と対策. *感染症誌* 67: 24—29, 1993
- 11) Stone HH, Hooper CA, Kolb LD, et al: Antibiotic prophylaxis in gastric, biliary and colonic surgery. *Ann Surg* 184: 443—452, 1976
- 12) Stone HH, Haney BB, Kolb LD, et al: Prophylactic and preventive antibiotic therapy. Timing, duration and economics. *Ann Surg* 189: 691—699, 1979

MULTI-DRUG RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS —A CLUSTER ANALYSIS USING FACTORS OF PATIENTS, BACTERIA AND DRUGS—

Junichi YOSHIDA¹⁾, Takayoshi NAGATA¹⁾ and Masao TANAKA²⁾

¹⁾Department of Surgery, National Shimonoseki Hospital

²⁾Department of Surgery I, Kyushu University Faculty of Medicine

Nosocomial propagation of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* was investigated in patients who underwent gastroenterologic operations. A cluster analysis was attempted to clarify the association of factors among 32 patients, 204 bacterial isolates, and drugs administered. The results showed that first- and second-generation cephalosporins, penicillins, and aminoglycosides were associated with increased resistance. Drugs of each group were given for an average of 5-9 days until the detection of the bacteria.

The results suggest that the use of first- and second-generation cephalosporins and penicillins during gastroenterologic operations was related with increased resistance and thus encourage to minimize their prophylactic administration.