

地域連携による薬剤耐性対策の標準化と有効性の評価～MRSA に注目して～

研究分担者 飯沼 由嗣 金沢医科大学 医学部 臨床感染症学 教授

研究要旨

感染対策防止加算および薬剤耐性菌サーベイランスを通じて石川県内で構築された感染対策連携システムを活用して、薬剤耐性菌対策の標準化と有効性の評価を行うために、院内感染起因菌として最も頻度の高い MRSA をターゲットに研究を行うこととした。市中発症皮膚軟部組織感染症（SSTI）由来 MRSA を対象に、主要な病原性因子と POT 法によるクローン解析を行った。2012 年と 2017～2019 年の比較において、SEA 産生株の著明な増加と SEB 産生株の減少がみられた。また PVL 産生株も増加傾向にあった。血液培養由来株においても SEA 産生株が優勢であり、SEA 産生株が市中及び院内感染の主要なクローンとなっていると考えられた。次年度以後、より詳細な微生物学的・分子生物学的検討に加えて臨床背景や予後、感染伝播リスクなどの解析を行う予定としている。

A. 研究目的

薬剤耐性菌は、一施設の問題では無く、転院などを契機に転院先の病院、あるいは療養型施設での伝播のリスクとなりうる。このため、地域連携による薬剤耐性菌対策は重要であり、2016 年より導入された感染防止対策加算は、加算 1 施設と加算 2 施設の連携に加えて、加算 1 同士の連携による加算も含まれており、地域ぐるみの耐性菌対策の推進の基盤が構築されつつある。

石川県では、地域連携加算については、地域別のグループでの相互チェックを行っており、その仕組みの中で、耐性菌対策について情報共有可能な状況となっている。また、感染防止対策加算とは別に、病院検査部の連携による耐性菌サーベイランス（北陸耐性菌サーベイランス研究会事業として実施）を 2011 年より継続している。これらの感染対策連携システムを活用して、薬剤耐性菌対策の標準化と有効性の評価を行うことを研究の目的としている。

MRSA はわが国における薬剤耐性菌として

最も頻度が高く、近年市中感染型クローンによる感染症の割合が増加している。本研究では MRSA に注目し、北陸地区での流行性クローンと病原性の評価、また高病原性と考えられるクローンの抽出と、重点的な対策による耐性菌制御の有効性を評価することを目的とした。1 年目は、自施設（金沢医科大学病院）および北陸耐性菌サーベイランス研究会事業にて収集された MRSA について、クローンの変遷や様々な病原性因子の変化の検証を行った。

B. 研究方法

1) 解析対象菌株

- 1) 市中発症（外来患者）皮膚軟部組織感染症（CA-SSTI）由来黄色ブドウ球菌（MSSA, MRSA）
 - ① 北陸耐性菌サーベイランス研究会収集株（2012 年, 2017 年）
 - ② 金沢医科大学病院での分離株（2018-19 年）

2) 血液由来黄色ブドウ球菌 (MSSA, MRSA)
金沢医科大学病院にて、2013～2019 年
に分離された株

2) 解析方法

1) 黄色ブドウ球菌の病原因子を特異的
PCR で確認 : PVL/ACME Panton
Valentine Leukocidin/Arginine
Catabolic Mobile Element) , TSST-1,
ETA, ETB, SEA～E

2) クロウンの判定 (MRSA) : Cica Geneous
® Staph POT KIT (関東化学) 使用

3) 重症度と病原因子, クロウンとの関連を検
証

(倫理面への配慮)

金沢医科大学医学研究倫理審査の承認を得
て実施した (承認番号 E192).

C. 研究結果

1) 市中発症 (外来患者) 皮膚軟部組織感染症
(CA-SSTI) 由来黄色ブドウ球菌 (MSSA,
MRSA)

① 北陸耐性菌サーベイランス研究会収集
株

2012 年: MRSA78 株

2017 年: MSSA 69 株, MRSA 51 株

② 金沢医科大学病院での分離株 (2018-19
年)

MRSA 67 株

2) 血液由来黄色ブドウ球菌

① MRSA99 株 (2013～2019 年)

② MSSA 120 株 (2013～2019 年)

結果 1. 毒素遺伝子保有状況

(外来 SSTI 患者由来 MSSA/MRSA)

Toxin	MSSA (n=69) (2017年)		MRSA (n=51) (2017年)		MRSA (n=78) (2012年)	
ETA	7	10.1%	10	19.6%	18	23.1%
ETB	0	0	2	3.9%	3	3.8%
TSST-1	3 ³⁾	4.3%	11 ¹⁾	21.6%	17 ³⁾	21.8%
SEA	8 ⁶⁾	11.6%	21 ²⁾⁷⁾	41.2%	11 ⁴⁾	14.1%
SEB	2	2.9%	3 ⁷⁾	5.9%	16 ⁴⁾⁵⁾	20.5%
SEC	6 ⁶⁾	8.7%	10 ¹⁾²⁾	19.6%	18 ³⁾	23.1%
SEE	0	0	0	0	3	3.8%
PVL	0	0	6 ⁷⁾	11.8%	2	2.6%
ACME	0	0	1	PVL/ACME= USA300	2 ⁵⁾	2.6%

1) TSST-1 陽性 10/11 が SEC 陽性, 2) 1 株は
SEA+SEC 陽性, 3) TSST-1 陽性すべて SEC 陽
性, 4) 2 株は SEA+SEB 陽性, 5) ACME 陽性
/PVL 陰性株 2/2 が SEB 陽性, 6) 2 株は
SEA+SEC, SEA+SED 陽性, 7) 2 株は
PVL+SEA, PVL+SEB 陽性

北陸耐性菌サーベイランスで収集された, 外
来 SSTI 由来 MRSA および MSSA について,
比較検討を行った. MRSA についての比較で
は, ETA, ETB, TSST-1, SEC については大き
な変化はみられなかった. これに対して, SEA
が 14.1%から 41.2%と大幅な増加がみられ,
SEB は 20.5%から 5.9%と大幅に減少した.
また欧米での市中感染 MRSA の主要な病原陰
性である PVL 産生株は 2.6%から 11.8%に増
加していた. MRSA に対して, MSSA では,
すべての毒素で MRSA よりも検出頻度が低く,
PVL 産生株は検出されなかった.

結果 2. 毒素遺伝子保有状況

(外来 SSTI 患者由来 MRSA)

Toxin	MRSA (n=66) (2018-9年)		MRSA (n=51) (2017年)		MRSA (n=78) (2012年)	
ETA	2	3.0%	10	19.6%	18	23.1%
ETB	0	0	2	3.9%	3	3.8%
TSST-1	5 ³⁾	7.6%	11 ¹⁾	21.6%	17 ³⁾	21.8%
SEA	38 ⁶⁾	57.6%	21 ²⁾⁷⁾	41.2%	11 ⁴⁾	14.1%
SEB	1 ⁶⁾	1.5%	3 ⁷⁾	5.9%	16 ⁴⁾⁵⁾	20.5%
SEC	5 ⁶⁾	7.6%	10 ¹⁾²⁾	19.6%	18 ³⁾	23.1%
SEE	0	0	0	0	3	3.8%
PVL	ND	ND	6 ⁷⁾	11.8%	2	2.6%
ACME	ND	ND	1	PVL/ACME= USA300	2 ⁵⁾	2.6%

- 1) TSST-1 陽性 10/11 が SEC 陽性, 2) 1 株は SEA+SEC 陽性, 3) TSST-1 陽性すべて SEC 陽性,
- 4) 2 株は SEA+SEB 陽性, 5) ACME 陽性/PVL 陰性株 2/2 が SEB 陽性
- 6) 2 株は SEA+SEB, SEA+SEC 陽性, 7) 2 株は PVL+SEA, PVL+SEB 陽性

ND: not done

金沢医科大学病院で 2018-19 年に分離された外来 SSTI 患者由来 MRSA と北陸耐性菌サーベイランスで検出された MRSA の比較検討を行った。SEA の検出比率は 56.7% とさらに増加し、一方 SEB は 1.5% に減少した。

結果 3. PVL 陽性 MRSA の POT 解析

施設	診療科	年齢	検体	POT1	POT2	POT3	推定 クローン
a	皮膚	5	膿 ¹⁾				
b	皮膚	42	開放創	104	27	113	ST59
b	皮膚	8	開放創	104	27	113	ST59
b	皮膚	24	開放創	110	76	97	ST30
c	皮膚	61	膿 ²⁾	106	183	37	ST1
d	形成外科	30	膿(粉瘤)	106	77	113	ST8 USA300
e	皮膚	65	開放膿	104	27	113	ST59
f	小児	9ヶ月	膿	110	16	49	ST30
g	皮膚	28	膿	106	77	113	ST8 USA300

a~d : 2017 年検出株

e, f : 2012 年検出株

g : 2011 年検出株

1) SEB 陽性株

2) SEA 陽性株

PVL 陽性 MRSA の POT 解析では、POT1=104 (推定クローン ST59) と POT=106-77-113 (推定クローン ST8, USA300) が比較的多く検出された。ST59 は台湾タイプの PVL 陽性 MRSA クローンであり、石川県への海外観光客として台湾からの旅行者が多いことが影響している可能性がある。また米国の流行クローンである USA300 の増加はみられていない。

PVL 陰性 MRSA の POT 解析では、ETA および ETB 陽性株はそれぞれ推定 121, ST89 の小児から検出されるクローンであった。一方近年増加傾向にある SEA 陽性株は、POT1=106 が多く、推定 ST=1 であり、同じく市中 MRSA クローンである SEC/TSST-1 産生株と同じ POT 型ではあるが別クローンと考えられる。

結果 4. PVL 陰性 MRSA の POT 解析

TOXIN	POT1	POT2	POT3	推定 クローン
ETA ¹⁾	70	18	81	ST121, ETAクローン
ETB ¹⁾	73	152	80	ST89, 小児流行クローン ETBクローン
TSST-1 SEC	106	-(9)	-	ST8 ⁴⁾
TSST-1	93	-	-	ST5 (N/J clone)
SEA ²⁾	106 (122)	183	-	ST1 ⁴⁾
SEB	93	-	-	ST764 (CC5) ⁴⁾
SEB ³⁾ ACME	93	191	103	ST764 (CC5) ⁴⁾

1) ETA, ETB 陽性株はすべて 6 才以下の小児由来, 2) SEA 陽性株は 8 ヶ月~91 才 (高齢者が比較的多い) 3) 2012 年解析株, 4) Kawamura K. Microb Drug Resist 2019;25:915-24. を参考とした。

結果 5. 血液培養由来黄色ブドウ球菌の毒素 遺伝子保有状況

Toxin	MRSA (n=66) (2018-9年, SSTI)	MRSA (n=99) (血液由来)	MSSA (n=120) (血液由来)			
ETA	2	3.0%	2	2.0%	2	1.7%
ETB	0	0	0	0	0	0
TSST-1	5 ¹⁾	7.6%	5 ¹⁾	5.1%	12 ²⁾	10.0%
SEA	38 ³⁾	57.6%	54 ⁴⁾	54.5%	10 ⁵⁾	8.3%
SEB	1 ³⁾	1.5%	13 ⁴⁾	20.5%	9	5.9%
SEC	5 ¹⁾³⁾	7.6%	5 ¹⁾	5.1%	16 ²⁾⁵⁾	19.6%
PVL	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ACME	ND	ND	ND	ND	ND	ND

1) TSST-1 陽性すべて SEC 陽性, 2) TSST-1 陽性 11/12 が SEC 陽性,
3) 2 株は SEA+SEB, SEA+SEC 陽性, 4) 1 株は SEA+SEB 陽性,
5) TSST-1 陰性 2 株は SEA+SEC 陽性
ND: not done

金沢医科大学病院で分離された黄色ブドウ球菌の毒素検出状況では、SEA 産生株が 54.5%と過半数を占めていた。この数字は近年 SSTI で検出された MRSA の 57.6%と非常に近い数字であった。また SSTI と異なり、SEB 産生株も 20.5%検出されていた。

一方、MSSA では SEC 産生株が 19.6%と最も多く、これらは TSST-1 産生と強い相関が見られている。

D. 考察

外来 SSTI 由来黄色ブドウ球菌の毒素の変遷をみると、MRSA では 2012 年→2017 年では SEA 産生株の増加と、SEB 産生株の減少が明らかであった。2018-19 年検出株ではその傾向はさらに顕著となり、SEA 産生株が 57.6%と過半数を占め、SEB 産生株はほぼ検出されなくなった。さらに ETA, ETB, TSST-1, SEC などの毒素産生株も減少していた。欧米の主要な市中感染病原因子である PVL 産生株は 2.6→11.8% (2012 年→2017 年) と増加傾向にあったが、顕著な増加はみられていない。一方、MSSA では SEA 産生株は 11.6% (2017 年) にとどまり、PVL 産生株も検出されなかった。Osaka らの報告 (J Med Microbiol, 2018) では、国内収集株の解析で、2016 年分離株で市中クローンと考えられる POT1=106 では、SEA 産生株が 82.4%と大多数を占めていた。1990 年分離株では圧倒的に POT1=93 の N/J Clone が優性であったことから、大規模なクローンのシフトが発生していることを報告している。

我々の解析では主に市中感染株をターゲットとしていることから結果が少し異なるが、Osaka らは POT1=93 の菌株において、TSST-1/SEC クローン(いわゆる N/J クローン:ST5)が減少し、ST8 で同じ毒素を産生する株と SEB 産生株 (ST764) の増加を報告している。また POT1=106 を示す市中由来株では、われ

われと同様に SEA 産生株の増加を報告している。このことから POT1=106 を示す市中由来株では SEA 産生株 (ST1) が、院内由来株では SEB (ST764) の増加と TSST-1/SEC 産生クローンの変化 (ST5→ST8) が起きていると考えられた。このような市中及び院内流行性クローンの変化の要因は不明であるが、SEA 陽性株による施設内伝播が疑われる (POT106-183-XX, 106-247-XX) 事例も石川県内で経験されており、病原性クローンとして注意が必要と考えられる。

血液由来黄色ブドウ球菌の解析では、MRSA において SEA 産生株が過半数を占めることが判明し、SEB 産生株も SSTI 由来株よりも多い傾向にあった。

次年度以後、近年増加傾向にある毒素産生クローン (市中/院内) について、より詳細な微生物学的・分子生物学的検討に加えて臨床背景や予後、感染伝播リスクなどの解析を行う予定としている。

E. 結論

MRSA はこの 10 年間で大きなクローンの変化が起きており、近年は SEA 産生株が優勢となっている。院内感染由来株においてもその傾向が見られ、病原性および伝播性において優位なクローンとなっていると考えられる。来年度以後より詳細な臨床的、微生物学的解析を行う予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・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

