

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

石川県内で構築された感染対策地域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、黄色ブドウ球菌特にMRSAをターゲットに研究をすすめている。2年目の研究として、1年目に行った毒素遺伝子解析に加えて、クローン解析もすすめ、MRSA菌血症について解析を行った。溶血環の大きな株、POT1=106を示す市中由来クローンによる感染症が比較的予後不良であった。また毒素遺伝子陰性株においても予後不良例が比較的多く、未知の予後不良因子などさらなる解析が必要と考えられた。

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同士の間で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。2年目は1年目の研究に継続して、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と予後との関連について解析を行った。

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

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) クローンの判定 (MRSA) : Cica Geneous® Staph POT KIT (関東化学) 使用
- 3) 重症度と病原因子, クローンとの関連を検証

(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) 予後と患者背景, 病原因子との関連

対象 : 金沢医科大学病院で 2013~2019 年に血液から MRSA 菌血症 99 症例

年齢 : 平均 68.5 歳 (0~98 歳)

男 : 女 62 : 37

予後

- ・死亡 (発症 30 日以内) : 15 例 (15%)
- ・難治 (持続菌血症, 長期治療) : 6 例 (6%)
- ・死亡および難治 : 21 例 (21%)

結果 1. 毒素遺伝子保有状況

(血液由来 MRSA, MSSA, 外来 SSTI 患者由来 MRSA, 1 年目データに PVL/ACME 解析データ追加)

Toxin	MRSA (n=66) (2018-9年, SSTI)		MRSA (n=99) (血液由来)		MSSA (n=120) (血液由来)	
	例数	割合	例数	割合	例数	割合
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⁾	13.1%	9	5.9%
SEC	5 ¹⁾³⁾	7.6%	5 ¹⁾	5.1%	16 ²⁾⁵⁾	19.6%
PVL	4 ⁶⁾	6.1%	0	0	ND	ND
ACME	5 ⁶⁾	7.6%	2	2.0%	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

6) 1 株は PVL/ACME 陽性 (USA300)

ND: not done

金沢医科大学病院で分離された血液由来 MRSA 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. PVL 陽性株は菌血症からは検出されず, SSTI 由来 MRSA のみ検出された. 1 株は USA300 であった.

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.

SSTI 由来株の POT 解析では, SEA 陽性株は POT1=106(市中由来クローン)主体, SEB 陽性株は POT1=93 (院内由来クローン) 主体であり, 経年変化は無かった. また TSST-1/SEC 陽性株では POT1=106 や 93 などが混在していた.

結果 2. 感染フォーカスと予後との関連 (MRSA 菌血症例)

感染フォーカス	症例数	死亡	難治	死亡+難治
血管内カテーテル	45	9(20%)	2(4%)	11(24%)
皮膚軟部組織	12	2(17%)	1(8%)	3(25%)
肺炎	7	1(14%)	0	1(14%)
透析シャント	5	0	0	0
尿路	5	0	1(25%)	1(25%)
心内膜炎	4	1(25%)	0	1(25%)
胆管炎	3	1(33%)	0	1(33%)
骨関節	3	0	1(33%)	1(33%)
人工血管	2	1(50%)	0	1(50%)
不明	13	0	1(8%)	1(8%)
計	99	15(15%)	6(6%)	21(21%)

感染フォーカス別では血管内カテーテルが最多となった. 肺炎, 透析シャント感染, フォーカス不明例では比較的予後が良好であった.

結果 3. 病原因子と予後との関連

Toxin	MRSA (n=99) (血液由来)		死亡	難治	死亡+難治
ETA	2	2.0%	0	0	0
ETB	0	0	0	0	0
TSST-1	5 ¹⁾	5.1%	2	1	3(60%)
SEA	54 ²⁾	54.5%	7	3	10(19%)
SEB	13 ²⁾	13.1%	1	0	1(8%)
SEC	5 ¹⁾	5.1%	2	1	3(60%)
ACME	2 ³⁾	2.0%	0	0	0
NONE	26	26.3%	5	2	7(27%)

1) TSST-1 陽性すべて SEC 陽性, 2) 1 株は SEA+SEB 陽性, 3) 2 株とも SEB 陽性

TSST-1/SEC クロンの予後が最も悪かった (死亡+難治 60%). 次いで毒素遺伝子陰性株が不良 (同 27%) であり, 最も検出頻度の高い SEA 陽性クロンが同 19%となった.

結果 4. β 溶血性と予後との関連

溶血環	N*	死亡	難治	死亡+難治
コロニーと同程度	50	5	3	8(16%)
コロニーより大	37	9	3	12(32%)
コロニーより大幅に大	2	0	0	0
溶血無し	8	1	0	1(13%)

β 溶血性でコロニーより大きな溶血環を示す株で予後が最も不良であった.

結果 5. β 溶血性・病原因子と予後との関連

Toxin	MRSA (n=99) (血液由来)		死亡+難治	β溶血同程度	β溶血大
ETA	2	2.0%	0	1	1
ETB	0	0	0	0	0
TSST-1	5 ¹⁾	5.1%	3(60%)	4	1
SEA	54 ²⁾	54.5%	10(19%)	36	9
SEB	13 ²⁾	13.1%	1(8%)	2	8
SEC	5 ¹⁾	5.1%	3(60%)	4	1
ACME	2 ³⁾	2.0%	0	2	0
NONE	26	26.3%	7(27%)	7	18

1) TSST-1 陽性すべて SEC 陽性, 2) 1 株は SEA+SEB 陽性, 3) 2 株とも SEB 陽性

SEA および SEB 陽性株, 毒素遺伝子陰性株で β 大溶血性株の多くを占めた.

結果 5. クロウン解析 (POT 法による)

Toxin	MRSA (n=99) (血液由来)		死亡+難治	POT1	POT2/3	推定 クロウン
ETA	2	2.0%	0	70	18/81	ST121, ETAクロウン
ETB	0	0	0			
TSST-1+SEC	5 ¹⁾	5.1%	3(60%)	93/69/106		ST5, N/J/?/ST8?
SEA ²⁾	53	53.5%	10(19%)	106	183, 247他	ST1
SEB ²⁾	12	12.1%	1(8%)	93	191他	ST746(CC5)
SEA+SEB	1	1.0%	0	93	181/109	ST5, N/J
ACME	2 ³⁾	2.0%	0	93	191/34	ST746(CC5)
NONE	26	26.3%	7(27%)	106 ⁴⁾ 他	191, 137	不明

1) TSST-1 陽性すべて SEC 陽性, 2) SEA+SEB 陽性を除く, 3) 2 株とも SEB 陽性, 4) 難治+死亡 4 例が POT1=106

毒素毎に, 特有のクロウンとなった. SEB, TSST-1/SEC 保有株の多くは POT1=93 の院内由来クロウン (N/J クロウン) となった. 一方 SEA 保有株のすべて, 毒素遺伝子陰性株の 15/26 では POT1=106 の市中由来クロウンとなった. このうち 4 例が予後不良例となった.

D. 考察

今年度の研究として, 1 年目の病原因子解析に加えて, 予後およびクロウンの追加解析 (POT 解析) を行った.

昨年度は毒素遺伝子の解析やシフトを解析したが, 今年度は主に MRSA 感染症の予後について解析を行った. 重篤かつ難治性感染症である MRSA 菌血症について, 解析を行ったが, TSST-1/SEC クロウンの予後が最も悪く, 次いで毒素遺伝子陰性株が不良であった. これに対して現在有意なクロウンとなっている SEA 陽性クロウンの予後は平均的数値であった. β 溶血性では, 溶血環が大きい株で予後不良であり, SEA および SEB 陽性株, 毒素遺伝子陰性株で比率が高かった.

クロウン解析では POT1=106 の市中由来クロウンにおいて, 比較的予後不良の結果となった. 一方で, SSTI および菌血症由来株いずれにおいても TSST-1/SEC 陽性株では POT1=106 や 93 などが混在しており, 市中由来クロウンへのシフトは明らかでは無かった.

一方で、欧米で問題となっている PVL 陽性株は菌血症例からは検出されず、SSTI と比較すると原因となる頻度は比較的低いと考えられた。

韓国 (Kim et al. AAC 2019) からは、TSST-1/SEC 陽性である N/J クローン (CC5) が予後不良と報告されている。N/J クローンはわが国における主要院内由来クローンであるが、血液由来 MRSA 株においては、現在ではマイナークローンとなっている。毒素遺伝子陰性株における予後不良因子 (未知の毒素因子など) についてさらなる検討が必要と考えられた。

E. 結論

MRSA 菌血症において、大きな溶血環と POT1=106 (市中由来クローン) とが予後不良との関連が示唆される結果となった。

最終年度はこれらの結果の情報共有に基づき、地域連携に役立つ情報提供が可能か検証する予定である。

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