

平成30年6月25日現在

機関番号：13601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15234

研究課題名（和文）MRSAの地域内伝播様式の解析と早期封じ込め対策の確立

研究課題名（英文）Analysis of regional propagation pattern of MRSA and establishment of early containment countermeasures.

研究代表者

松本 剛（Matsumoto, Go）

信州大学・医学部・助教（特定雇用）

研究者番号：70600518

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の分離率は医療機関で感染対策が十分に行われているかどうかの指標とされている。近年、遺伝子検査を行うことで、分離されたMRSAの由来が同一か否かを判断することが可能になっている。今回、長野県内の医療機関で分離されたMRSAの遺伝子検査を行い、MRSAの長野県内での伝播様式の調査を行った。長野県は大きく4つの地区に分けられる。分離されたMRSAは特定の地区で同一由来株の伝播が多いことがわかった。また、同一由来株の伝播が多い地区ではMRSAの分離率が高く、MRSAの水平伝播は地域の問題として対応しなければならないと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The separation rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is regarded as an indication of whether or not infection control measures are sufficiently conducted in medical institutions. In recent years, it has become possible to judge whether or not the origins of separated MRSAs are identical by genetic testing. We conducted MRSA genetic tests separated by medical institutions in Nagano Prefecture and conducted a survey of the propagation pattern of MRSA in Nagano Prefecture.

Nagano prefecture can be broadly divided into 4 districts. The isolated MRSA was found to have a large number of identical-derived strains propagated in specific areas. In regions where transmission of identical strains is frequent, the separation rate of MRSA is high, and horizontal transmission of MRSA should be dealt with as regional problem.

研究分野：感染症

キーワード：感染対策 MRSA

1. 研究開始当初の背景

(1) MRSA は多くの重症感染症を引き起こし、そのまん延は世界的に問題となっている。MRSA は接触感染により伝播する。一つの医療施設において MRSA がアウトブレイクした際には分子疫学的手法を用いて MRSA の広がりを検討した報告は多数あるが、地域内での MRSA の広がりを検討した研究は行われていない。

(2) MRSA を遺伝学的に解析することが比較的容易になった。PCR-based ORF Typing (POT 法) は菌株ごとに保有状態が異なる DNA 配列の読み取り枠 (Open Reading Frame; ORF) を事前に選び、それらの ORF 保有パターンを Multiplex PCR によって検出することにより、菌株の遺伝子型を決定する解析である。POT 法では遺伝子型を POT 値として数値化し、POT 値が同一であれば同一由来株と判断ができる。また POT 値の比較は同時に行った検査でなくとも可能であるため、異なる期間において行った検査であっても比較が可能である。この方法により、多数の MRSA の遺伝子タイピングが可能となった。

(3) 長野県では長野県感染対策研究会を組織し、長野県全体を一つの大きなバーチャル病院と考え、多剤耐性菌に対処している。対策の一つとして Shinshu Infection Control Surveillance System (SICSS) の開発、運用があげられる。SICSS では長野県内の医療施設で行われた細菌検査結果をインターネット経由で信州大学医学部附属病院のサーバーに毎月定期的に集め蓄積している。その結果を長野県検査技師会微生物班が解析し、長野県内での耐性菌のアウトブレイクを早期に発見している。また SICSS を用いることで、長野県内での MRSA 検出数を医療機関別、地区別に集計することが可能である。SICSS とは別に長野県感染対策研究会では毎年 1 回耐性菌サーベイランスを全県的に行っており、このサーベイランスを利用することで長野県内で検出された MRSA の菌株を収集することが可能である。

(4) 長野県では SICSS からのデータにより、地区ごとに MRSA の分離率が異なることはわかっている。この原因がもともと地域で複数の MRSA が分離されているのか、地域内で同一由来の MRSA が広がっているのかは不明である。この地域間格差の原因を知ることは MRSA の分離率を下げる方策をとる上で重要であると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 長野県内の医療機関で分離された MRSA を収集し、POT 法によりその遺伝子タイピングを行う。

(2) 遺伝子タイピングにより、長野県内の

各地区 (北信地区、東信地区、中信地区、南信地区) で分離された MRSA が水平伝播したものであるか否かの検討を行う。

(3) SICSS から収集された MRSA 分離状況と、今回のサーベイランスで行われた MRSA 遺伝子タイピングの結果から、地区における MRSA 分離頻度と、同一由来株の分離率を比較し MRSA の広がりの原因を検討する。また期間を空けて MRSA を収集することで、MRSA 流行株の時間的変化を検討する。

3. 研究の方法

(1) MRSA の収集

研究の承諾を得られた施設で分離された MRSA の収集を行った。2015 年 7 月 1 日から 7 月 31 日までに長野県内 41 施設から検出された MRSA と 2016 年 7 月 1 日から 8 月 31 日までに長野県内 57 施設で分離された MRSA の収集を行う。各施設で分離された MRSA はカジトン培地で保存し、収集期間が終了したところで、信州大学医学部附属病院臨床検査部に集めた。

(2) MRSA の確認

各医療施設から送られたカジトン培地から菌を再培養した。培養されたコロニーを MRSA スクリーニング培地を用いて、MRSA であることの確認を行った。

(3) POT 法による遺伝子タイピング

MRSA と確認された菌株について、POT 法を用いて POT 値を決定した。POT 値は 3 つの数字で表現され、すべてが一致した株について同一由来株と判断した。

(4) 結果の解析

POT 法により決定された POT 値および SICSS により収集された長野県内医療機関での MRSA 分離率を比較することで、MRSA の広がりの原因について解析を行った。

4. 研究成果

(1) 長野県内の MRSA 分離率

SICSS により抽出された 2015 年度および 2016 年度の MRSA 分離数 (実数) および全 *S. aureus* に占める MRSA 分離率 (カッコ内) は地区ごとに以下の通りであった。

	2015 年度	2016 年度
北信	1041 (31.9 %)	1118 (33.4 %)
東信	487 (26.7 %)	579 (29.8 %)
中信	1120 (42.5 %)	1354 (42.2 %)
南信	1672 (53.0 %)	1902 (51.6 %)

2 年間で MRSA の分離数は各地区とも増加し

ていたが、分離率はほとんど変化がなかった。全培養検体数の増加が MRSA 分離数の増加につながったと考えられる。各地区ごとで見ると、北信地区と東信地区の MRSA 分離率は 30% 前後であり、厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）で報告されている国内の MRSA 分離率（全 *S. aureus* に占める MRSA の分離率）35% を下回っている。その一方で中信地区は 42% 前後、南信地区は 50% 以上と、全国の MRSA 分離率を大きく上回っている状況である。

（2）MRSA の収集状況

2015 年には長野県内 41 医療機関から 344 株の MRSA を、2016 年には 57 医療機関から 926 株の MRSA を収集した

2015 年 7 月 1 日から 7 月 31 日までに長野県内 41 施設で分離された MRSA の株数および各地区ごとの施設数を以下に示す。

	株数	施設数
北信	72 株	10
東信	17 株	8
中信	116 株	11
南信	139 株	12

東信地区が著しく少ない結果となったが原因は不明であった。その他の地区では北信地区で少なく、中信地区、南信地区で 1 施設平均 10 株以上分離された。

2016 年 7 月 1 日から 8 月 31 日までに長野県内 57 施設で分離された MRSA の株数および各地区ごとの施設数を以下に示す。

	株数	施設数
北信	211 株	15
東信	120 株	13
中信	300 株	15
南信	295 株	14

施設数は地区ごとでほとんど差がないものの、収集 MRSA 株数は東信地区がもっとも少なく、南信地区では多くなっている。この結果は年度別 MRSA 検出数と同様の結果であった。

（3）POT 法による分子疫学タイピング

長野県内で分離された MRSA の分子疫学タイピングの結果は以下の通りであった。POT 値が同一である株の検出数のうち、10 株以上が同一由来株であった結果を表に示す。

2015 年

POT index	総検出数	北信	東信	中信	南信
106-183-37	83	14	2	13	54
93-191-103	46	4	0	29	13
106-9-80	11	3	2	3	3
93-174-111	10	9	0	1	0

2016 年

POT index	総検出数	北信	東信	中信	南信
106-183-37	172	20	10	41	101
93-191-103	72	5	11	29	27
106-183-32	25	12	4	3	6
106-129-5	24	9	0	5	10
106-9-80	19	7	4	4	4
106-147-45	18	4	1	13	0
106-137-80	14	8	2	4	0
93-155-111	10	6	0	2	2
106-163-37	10	0	10	0	0
106-147-41	10	0	0	7	3

（4）考察

2015 年に長野県内で 1 カ月間に分離され収集された MRSA は 344 株であった。また 2016 年に長野県内で 2 カ月間に分離され収集された MRSA は 926 株であった。そのうち、255 株（20.1%）が同一由来の MRSA（106-183-37）であった。この株は南信地区においては分離 MRSA の 34.2% を占めており、南信地区での MRSA 流行の原因と考えられる。

MRSA はもともと医療関連感染により広がっていると考えられていた。近年になり市中でも広がりが知られている。MRSA は感染の広がる場所や薬剤感受性試験結果から院内感染型 MRSA と市中感染型 MRSA に分けることができる。POT 法ではその POT 値により、MRSA が院内感染型か市中感染型か推定が可能とされている。

今回長野県内で多く分離された MRSA（106-183-37）は市中感染型と推定され、市中で同一由来株の MRSA が広がっていると考えられる。その一方で MRSA の新規保菌のリスクとして入院や抗菌薬使用が考えられるため、同一由来株の MRSA の広がりの場はおもに医療関連施設と考えられる。

医療施設ごとの解析も行ったが、もっとも多く分離された（106-183-37）株は特定の病院では全分離株の 50% 以上を占めることもあった。それらの医療施設は SICSS のデータより医療機関における MRSA 分離率が高いこともわかった。このことから長野県内の特定の地域における MRSA 分離率の高さは MRSA の院内伝播によるものと推測される。

長野県内で 2 番目となる 72 株分離された

MRSA (93-191-103) はその POT 値から院内感染型と推定される株である。本菌は中信地区、南信地区においてそれぞれ分離された MRSA のうちの約 10% を占めており、MRSA の広がりにはやはり医療関連施設における感染対策が重要であると考えられる。

次に、MRSA 流行株の経時的変化について考察する。2015 年の分離数が 1 位と 2 位の (106-183-37) と (93-191-103) の 2 株は 2016 年においても上位 2 株であり、1 度流行株となった株はその地域で定着していることがわかる。その一方で 2015 年に 2 株しか分離されていない (106-183-32) が 2016 年には 25 株分離され、同様に 2015 年には 3 株しか分離されていない (106-129-5) が 2016 年には 24 株分離されている。しかもこれらの株は 2016 年には一つの地区での流行ではなく、それぞれの地区で分離数が増加している。このことは新規の MRSA の流行が同時期に複数の地区で起こっていると考えられ、その原因については現時点では不明である。他県の MRSA の流行状況も併せて考える必要がある。

(5) 今後の展望

POT 法では MRSA が同一由来株か否かの判定をすることはできるが、菌株の由来や性質を判定することができない。病原遺伝子の検出を行うことで分離された MRSA の病原性を知ることができる。また multi locus sequencing typing (MLST) 法は複数の菌株について遺伝子配列の差異に基づいて、進化的時間軸を背景とした MRSA の系統樹を書くことができる。今回の研究結果に MLST 法を追加することで、MRSA の時間的地理的变化の解析を行う。

5. 主な発表論文等

〔その他〕

松本剛, MRSA 分子疫学調査報告, 第 18 回
長野県感染対策研究会, 2017

松本剛, MRSA 分子疫学調査報告, 第 17 回
長野県感染対策研究会, 2016

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 剛 (MATSUMOTO, Go)
信州大学・医学部・助教 (特定雇用)
研究者番号: 70600518

(2) 研究分担者

本田 孝行 (HONDA, Takayuki)
信州大学・学術研究院医学系・教授
研究者番号: 80238815

(3) 連携研究者

(4) 協力研究者

金内 茜 (KANEUCHI, Akane)
信州大学医学部保健学科学学生
研究者番号: なし