

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：12605

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790671

研究課題名(和文) 獣医療におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の保菌と予防に関する疫学研究

研究課題名(英文) Epidemiological analysis of methicillin-resistant Staphylococcus aureus carriage in veterinary medical practice

研究代表者

石原 加奈子 (ISHIHARA, KANAKO)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・講師

研究者番号：60515849

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)： 民間動物病院や大学付属動物病院の獣医師のMRSA保菌率は高かったが(23%または12%)、彼らに接触した犬のMRSA保菌率は1%(3/292)と低かった。しかし、犬由来MRSAの遺伝子型は、同じ動物病院の獣医療スタッフ由来MRSAの遺伝子型と共通で、動物病院内での伝播が推察された。獣医療由来MRSAの遺伝子型は、ST5-spa t002-SCCmec IIが最も多く、日本の院内感染型と同じであった。

獣医師らの衛生対策とMRSA保菌の関連を解析したが、MRSAの予防因子は特定できなかった。診療時の1頭ごとの手洗い等の実施率自体が低く、獣医療における衛生対策の改善が必要と考えられた。

研究成果の概要(英文)： The percentages of MRSA carriage among veterinarians in private veterinary clinics (23%, 22/96) and academic veterinary hospitals (12%, 6/50) were high in Japan. However, MRSA carriage among dogs, which they had contact with veterinarians, was rare (1%, 3/292). Genotypes for canine MRSA isolates were concordant with those from veterinary staff members who potentially had contact with each MRSA-positive dog in the veterinary clinic. Most of MRSA isolates from veterinary staff and dogs were the same genotype (ST5-spa t002-SCCmec II) or the variant type as major hospital-acquired MRSA clone in Japan.

Although the association between MRSA carriage and personal hygiene management was not indicated in academic veterinary hospitals, the percentages to practice hand washing between animal patients and to wear gloves or masks were low. Veterinary staff may be required to practice personal hygiene management for prevention of nosocomial infection in veterinary medical practice in Japan.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：感染予防 MRSA

1. 研究開始当初の背景

(1) **薬剤耐性菌の社会的問題:** 多剤耐性アシネトバクターや多剤耐性緑膿菌のほか、ニューデリー・メタロ-β-ラクタマーゼ(NDM-1)を産生する新たなタイプの多剤耐性菌の検出など、国内での多剤耐性菌の院内感染がマスコミに取り上げられることも多い。しかし、日本におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の新規感染症患者は、他の耐性菌と比べ、いまだに多い。また、手術や入院歴のない人から市中感染型 MRSA が分離され、新たな問題になっており、日本の健康な子供の 4.3% から MRSA が分離されている (Hisata, 2005)。

(2) **獣医療における MRSA:** 研究代表者らは、獣医大学の臨床および非臨床研究室の教員、獣医師及び獣医学生における MRSA の保菌状況を調査し、MRSA の分離率は、大学付属動物病院の獣医師で 23.5 ~ 25% および獣医学生で 2.7 ~ 5.9% であり (Ishihara, 2010)、スコットランドの 3.9%、デンマークの 3.0% と比べると、高い MRSA 保菌率を明らかにした。

MRSA 保菌に関与する因子を単変量解析により解析した結果、MRSA 陽性症例との接触、職員であることおよび動物病院所属の 3 項目が有意に関連し、ロジスティック回帰分析により、このうち前者 2 項目が独立して MRSA 保菌に関与する項目であることを明らかにした。また、疫学情報と分離株の遺伝学的解析から、獣医師から犬への MRSA 伝播が疑われる事例も認められた (Ishihara, 2010)。

獣医療から市中への MRSA 拡大を防ぐため、獣医療における院内感染防止対策の構築が必要であるが、前述の研究では、MRSA 保菌の危険因子および予防因子については、調査していなかった。MRSA 予防策の策定のため、さらなる疫学解析および分子疫学解析が必要であると考えた。

2. 研究の目的

獣医療や伴侶動物を介した MRSA の感染拡大を防ぐことを目的とし、以下の解析を行った。

- (1) 疫学解析による獣医師等の MRSA 保菌の危険因子と予防因子の特定
- (2) MRSA 感染防止対策を通じ、獣医療現場における衛生対策の向上、伴侶動物から獣医療従事者及び飼育者への MRSA 伝播のリスクの低減
- (3) 医療および海外の MRSA との遺伝学的比較のため、獣医師等から分離される MRSA の遺伝学的解析

3. 研究の方法

- (1) 動物病院の獣医師等の鼻腔スワブと被検者の疫学情報を収集し、鼻腔スワブから MRSA 等を分離

- (2) 分離株の薬剤耐性型、SCCmec 型、PFGE 型、spa 型及び MLST による ST の決定
- (3) 疫学情報と MRSA 保菌との関連を解析し、保菌の危険因子や予防因子を決定

4. 研究成果

(1) **民間の動物病院における MRSA**

一次診療を行う民間の動物病院で診療にあたる獣医師 96 名、動物看護師 (VT) 70 名および犬 292 頭の MRSA の保菌状況を調べた。その結果、MRSA は獣医師 22 名 (22.9%)、VT 7 名 (10%) から分離され、その割合は大学付属動物病院と同様に高かった。一方、犬では、2 頭の供血犬と 1 頭の肝疾患に罹患した犬からのみ MRSA が分離された (1.0%, 3/292)。MRSA が分離された犬が飼育又は診療を受けた動物病院には、1 名以上の MRSA 保菌者が勤務しており、犬と獣医療スタッフから分離された MRSA の遺伝子型は、ST5-spa t002-SCCmec II (2 動物病院由来、スタッフ由来 3 株および犬由来 2 株) または ST30-spa t021-SCCmec IV (1 動物病院由来、スタッフおよび犬由来各 1 株) で、病院ごとに共通であった。その他の獣医師らが保菌していた MRSA の多くは、人の医療現場で院内感染の原因となっている MRSA と同じ遺伝子型 (spa type t002-SCCmec type II) で、多剤耐性を示した。

MRSA 保菌の危険因子を特定するため、保菌と疫学情報の解析を行った。単変量解析の結果、MRSA 保菌と関連があったのは、職種および性別だった (表 1)。また、単変量解析により、関連の見られた変数について ($P < 0.2$)、ロジスティック回帰分析による多変量解析を行った結果、男性であることが MRSA 保菌の危険因子として特定された (調整オッズ比, 3.7; 95%信頼区間 1.6-8.9)。

表 1. MRSA 保菌との疫学情報の関連

変数	OR	CI _{95%}
職種		
獣医師	2.7	1.1-6.7
動物看護師	Ref	
性別		
男性	3.7	1.6-8.9
女性	Ref	
MRSA 陽性症例との接触		
あり	2.3	0.99-5.3
なし	Ref	
医療における MRSA 感染危険因子		
あり	1.2	0.4-3.4
なし	Ref	
自宅での伴侶動物の飼育		
あり	0.99	0.3-3.2
なし	Ref	
臨床経験年数*		
	1.0	0.99-1.1

OR, オッズ比; CI_{95%}, 95%信頼区間

*ロジスティック回帰分析により算出

(2) 大学付属動物病院における MRSA

大学付属動物病院 (3施設) で診療を行う獣医師50名のMRSAの保菌状況を調べた。また、診療頭数など診療内容6項目、MRSA症例との接触歴2項目、手指消毒などの衛生管理7項目、その他18項目について調査した。

獣医師6名(12%)からMRSAが分離された。分離されたMRSAは、4株が日本の医療現場で主要な遺伝子型(ST5-*spa* t002-SCC*mec* II)と同じか、その変異型であった(表2)。

表2. 獣医師由来MRSAの遺伝子型

Strain	SCC <i>mec</i>	<i>spa</i> type	ST by MLST
87	II	t2905	5
219	II	t002	5
259	II	t002	512
268	II	t003	5
256	I	t1767	8
117	IV	t1767	8

MRSA保菌者と陰性者の疫学情報を解析すると、保菌者の診療頭数(平均83頭)は、陰性者(平均40頭)より有意に多かった($P < 0.05$)。一方、臨床経験年数、手術頭数、抗生物質投与頭数に有意な差は認められなかった。

また、診療時の衛生対策の実施とMRSA保菌に関連は認められなかった(表3)。馬の診療に従事する獣医師らに関する調査において、診療時の手洗いは、MRSAの予防要因となることが報告されている(Anderson, 2008)。本調査で、手洗い等が予防要因と特定されなかったことには、検体数や衛生対策の実施者数が影響しているかもしれない。診療時の手洗い、手袋着用およびマスク着用は、MRSA保菌との関連は認められなかったが、獣医師らの診療時の衛生対策は、人獣共通感染症や院内感染対策として見直す必要があると考えられた。

表3. MRSA 保菌と衛生対策の関連

変回 数 答	n	保菌者(%)	OR	CI _{95%}
診療1頭ごとの手洗い又は手指消毒				
Y	26	5 (19%)	5.3	0.53–269.6
N	24	1 (4%)		
診療時の手袋着用				
Y ^a	21	2 (10%)	0.7	0.05 – 5.2
N	29	4 (14%)		
診療時のマスク着用				
Y ^b	6	0	0	0 – 7.0
N	44	6 (14%)		

OR, オッズ比; CI_{95%}, 95%信頼区間

Y, Yes (実施); N, No (実施しない); n, 回答者数; a, 外傷、皮膚病および化膿の症例の診察時に着用; b, 感染症疑いの症例の診察時または常時着用

(3) 獣医師から分離されたメチシリン耐性コアグラーゼ陰性ブドウ球菌

2007年から、年1回、獣医師らのMRSA保菌を調査する中で、2008年に9.4%であったメチシリン耐性コアグラーゼ陰性ブドウ球菌(MRCNS)の分離率が、2010年から増加した(図1)。

獣医師らから2010年に分離されたMRCNS 72株の菌種、薬剤感受性、SCC*mec*型を決定し、一部の株について塩基配列の決定を行った。

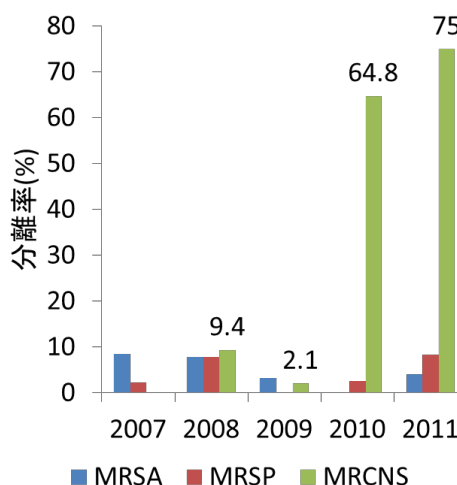


図1. 獣医師らにおけるメチシリン耐性ブドウ球菌の分離率の年次推移

MRSA, メチシリン耐性黄色ブドウ球菌; MRSP, メチシリン耐性 *Staphylococcus pseudintermedius*; MRCNS, メチシリン耐性コアグラーゼ陰性ブドウ球菌

菌種同定の結果、*S. epidermidis* (MRSE) が最も多く認められた(54株, 75%)。MRSEは、患者の血液などから高率に検出されることが知られているほか、健康な子供の保菌も報告されている(Jamaluddin, 2008)。その一方で、犬や猫からの分離例は少なく、獣医療に特有なMRCNSの拡大ではないと考えられた。

MRCNSの全株がオキサシリンおよびアンピシリンに耐性で、カナマイシン(35%)、エリスロマイシン(32%)およびシプロフロキサシン(31%)の耐性株の割合が高く、46株(64%)は、ラクタム系以外の抗菌剤にも耐性を示す多剤耐性で、獣医療における易感染動物への伝播には注意が必要である。

MRSEの42株がSCC*mec* IVを保有し、そのうち、6株が非典型class B *mec* complexを保有していた。これら6株の非典型class B *mec* complexの塩基配列を決定したところ、IS1272と*mecA*遺伝子の間に*tnp20*様遺伝子が挿入され、韓国で増加が報告されているST72 MRSAの保有する非典型class B *mec* complexと一致率(99.7%)が高かった(図2)。

これら非典型 class B *mec* complex を保有する一部の MRSE 株の MLST 解析を行ったところ、7 allele 中 3 allele に違いが認められ、単一クローンではなかった。

韓国や、日本の獣医師から分離報告のある ST72 MRSA および異なる MRSE クローンに SCC*mec* に部分的な共通配列が認められた。今後、SCC*mec* の他の領域についても、共通性を確認する必要がある。

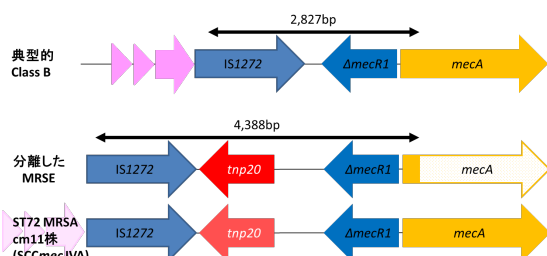


図 2 class B *mec* complex の IS1272-*mecA* 領域の遺伝子解析

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

Ishihara, K., Saito, M., Shimokubo, N., Muramatsu, Y., Maetani, S. and Tamura, Y. 2014. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage among veterinary staff and dogs in private veterinary clinics in Hokkaido, Japan. *Microbiol. Immunol.* 58: 149–154. 査読あり doi: 10.1111/1348-0421.12128.

[学会発表](計 3 件)

石原 加奈子、酒井 久美子、椿下 早絵、田村 豊、獣医師から分離されたメチシリン耐性コアグラーゼ陰性ブドウ球菌の遺伝学的解析、2012年9月16日、第154回日本獣医学会学術集会、岩手大学(岩手)

石原 加奈子、伴侶動物病院におけるMRSAの現状、平成23年度日本獣医学会 獣医学術学会年次大会(招待講演) 2012年2月5日、札幌コンベンションセンター(北海道)

佐藤 友美、石原 加奈子、蒔田 浩平、鬼頭 克也、岩崎 利郎、田村 豊、獣医療におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の疫学調査、第152回日本獣医学会学術集会、2011年9月20日、大阪府立大学中百舌鳥キャンパス(大阪)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石原 加奈子 (ISHIHARA, Kanako)
東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・講師

研究者番号: 60515849

(2) 研究協力者

田村 豊 (TAMURA, Yutaka)
酪農学園大学・獣医学部・教授

研究者番号: 50382487

岩崎 利郎 (IWASAKI, Toshiroh)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号: 50262754

鬼頭 克也 (KITOH, Katsuya)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号: 80270974