

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590676

研究課題名(和文) 市中で感染したMRSAの薬剤耐性および病原性解析とその治療戦略

研究課題名(英文) Microbiological and molecular epidemiological analyses of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan

研究代表者

矢野 寿一 (Yano, Hisakazu)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：20374944

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：2012年10月から2013年9月までに分離されたMRSA 231株を用いて分子疫学的解析を行った結果、CDCの定義による臨床的CA(市中感染型)-MRSAは28株(12.1%)、SCCmec型別による細菌学的CA-MRSAは78株(33.8%)と乖離が見られた。また231株のMRSAは88種類のクローナル・グループに分別され、細菌学的CA-MRSAで最も多く検出されたクローンはMLST解析によりこれまで本邦で報告のされなかったST5-SCCmecのMRSAクローンであった。本邦で分離されるMRSAの細菌学的特徴や、分子疫学的解析による遺伝子学的な集団構成が判明した。

研究成果の概要(英文)：In this study, the MRSA isolates were classified as CA-MRSA or hospital-associated (HA)-MRSA according to a clinical classification based on patient information and a molecular classification based on SCCmec typing. Additionally, we performed PFGE and MLST. Of the 231 MRSA isolates, 28 and 78 were classified as CA-MRSA by the clinical and molecular classifications, respectively. The most frequently detected CA-MRSA clone was sequence type 5-SCCmec IV, which has not previously been reported in Japan. The numbers of detected CA-MRSA isolates differed between the molecular classification and the clinical classification and the CA-MRSA detection frequency and the presence of the ST5-SCCmec IV clone were distinctive features in Japan.

研究分野：薬剤耐性菌

キーワード：MRSA CA-MRSA

## 1. 研究開始当初の背景

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) はメチシリンに耐性を示す黄色ブドウ球菌のことで、1961年に英国で初めて報告された耐性菌である。本邦では、1980年代から分離頻度が増加し、入院患者に医療関連感染症を引き起こす院内感染原因菌として問題となってきた。しかし近年、医療行為との関連が明らかでない個人に感染する市中感染原因菌としても問題となってきた。薬剤耐性菌でもある。米国疾病管理予防センター (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) により、市中感染型 MRSA (community-associated MRSA, CA-MRSA) は医療行為曝露歴のない患者から検出された MRSA として臨床定義が作成され、従来から知られている院内感染型 MRSA (hospital-associated MRSA, HA-MRSA) とは異なるさまざまな細菌学的特徴が解明されてきた。近年、CA-MRSA の細菌学的特徴を有する MRSA が入院患者から検出されることから、患者の臨床情報に基づく CDC の定義が必ずしも MRSA の細菌学的特徴を反映していないことが認識されるようになってきた。また、CA-MRSA に対する病院内での感染制御策もまだ定まったものはなく、そのための疫学的研究が必要とされている。効果的な感染制御策の構築のため、病院内で分離される MRSA における分子疫学的解析法を用いた遺伝子学的な集団構成の解析が必要と考えられている。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、東北大学病院内の MRSA の疫学的状況について把握し、特に CA-MRSA の分離状況とその細菌学的な特徴、遺伝子学的な集団構成を明らかにし、MRSA に対してより効果的な院内感染制御策を構築していくための基礎データとすることを目的とした解析を行った。

## 3. 研究の方法

2012年10月から2013年9月までの1年間に東北大学病院で検出された各患者の MRSA 初回分離株のうち *mecA* 遺伝子を保有することが確認され MRSA と同定された 231 株を対象として、CDC の定義による CA-MRSA と HA-MRSA の臨床的分類、staphylococcal chromosomal cassette *mec* (SCC*mec*) 領域の型別による CA-MRSA と HA-MRSA の細菌学的分類を行った。また細菌学的特徴の解析として CA-MRSA の特徴的病原性因子である Panton-Valentine leukocidin (PVL) 産生遺伝子と arginine catabolic mobile element (ACME) 関連遺伝子の検索、および微量液体希釈法による薬剤感受性試験を行った。さらに東北大学病院で分離される MRSA の遺伝子学的な集団構成の解析として、分子疫学的解析法の phage-open reading frame typing (POT) 法によ

る CA-MRSA と HA-MRSA の POT 分類、菌染色体の open reading frame 領域の違いに基づくクローン識別、各クローンの病棟ごとの分離状況の調査、multi-locus sequence typing (MLST) による当院の CA-MRSA と既知の国際的な流行クローンとの比較、および pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) による CA-MRSA クローン同士の類縁関係の検討を行った。

## 4. 研究成果

対象 231 株のうち、CDC の定義による臨床的 CA-MRSA は 28 株 (12.1%)、SCC*mec* 型による細菌学的 CA-MRSA は 78 株 (33.8%) であった。PVL 産生遺伝子陽性株は 3 株、ACME 遺伝子陽性株は 1 株のみで、いずれも外来もしくは入院時検出株であったが、PVL 陽性 1 株は壊死性筋膜炎患者からの分離株であった。臨床的 CA-MRSA のスルバクタム・アンピシリン、イミペネム、ドキシサイクリンに対する非感性率は臨床的 HA-MRSA より有意に低かった。一方、細菌学的 CA-MRSA はスルバクタム・アンピシリン、イミペネム、セファゾリン、セフェピム、アミカシン、レボフロキサシン、ミノサイクリン、ドキシサイクリン、クリンダマイシン、エリスロマイシンの合計 10 種類の抗菌薬に対する非感性率が細菌学的 HA-MRSA より有意に低かった。POT 解析では、4 株を除いて POT 分類による CA-MRSA と HA-MRSA の判定は SCC*mec* 型別試験によるものと一致した (98.2%)。また 231 株の MRSA は 88 種類のクローナル・グループに分別され、そのうち 30 種類のクローナル・グループ (34.1%) が細菌学的 CA-MRSA であった。細菌学的 CA-MRSA で最も多く検出されたクローンは MLST 解析によりこれまで本邦で報告のされなかった ST5-SCC*mec*IV の遺伝子型の MRSA クローンであった。入院 48 時間以降に患者から分離された MRSA 166 株においては、単一の病棟での集積状況や複数の病棟にわたる分離状況などがクローンごとに異なっていた。POT で分別された CA-MRSA クローナル・グループの間には PFGE 解析によって 4 通りの組み合わせで高い相同性が見られた。

## 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 9 件)

Takayama Y, Yano H, Nojima Y, Nakano R, Okamoto R, Hirakata Y, Sunakawa K, Akahoshi T, and Kaku M: Influence of prior pandemic A(H1N1)2009 virus infection on invasion of MDCK cells by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect Chemother 20: 71-73,

2014 査読有

DOI: 10.1016/j.jiac.2013.07.012.

Oda K, Yano H, Okitsu N, Chiba T, Hara Y, Kudo T, Ozawa D, Irimada M, and Ohyama K: Detection of *Chlamydia trachomatis* or *Neisseria gonorrhoeae* in otorhinolaryngology patients with pharyngeal symptoms. *Sexually Transmitted Infections* 90: 99, 2014 査読有

DOI: 10.1136/sextrans-2013-051419.

Endo S, Yano H, Kanamori H, Inomata S, Aoyagi T, Hatta M, Gu Y, Tokuda K, Kitagawa M, and Kaku M: High frequency of *Acinetobacter soli* among *Acinetobacter* isolates causing bacteremia at a Japanese tertiary hospital. *J Clin Microbiol* 52: 911-915, 2014 査読有

DOI: 10.1128/JCM.03009-13.

Kakuta R, Yano H, Hidaka H, Miyazaki H, Irimada M, Oda K, Arai K, Ozawa D, Takahashi T, Kaku M, and Katori Y: A case of severe acute otitis media caused by mucoid *Streptococcus pyogenes* in a previously healthy adult. *Tohoku J Exp Med* 232: 301-304, 2014 査読有

DOI:なし

Kakuta R, Yano H, Kanamori H, Shimizu T, Gu Y, Hatta M, Aoyagi T, Endo S, Inomata S, Oe C, Tokuda K, Ozawa D, Goto H, Katori Y, and Kaku M: *Helicobacter cinaedi* causing infected abdominal aortic aneurysm. *Emerg Infect Dis* 20: 1942-1945, 2014 査読有

DOI: 10.3201/eid2011.140440.

Ozawa D, Yano H, Hidaka H, Kakuta R, Komatsu M, Endo S, Kanamori H, Kaku M, and Katori Y: Twelve-year survey (2001-2012) of the antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolates from otorhinolaryngology clinics in Miyagi Prefecture, Japan. *J Infect Chemother* 20: 702-708, 2014 査読有

DOI: 10.1016/j.jiac.2014.07.014.

Kanamori H, Kakuta R, Yano H, Suzuki T, Gu Y, Oe C, Inomata S, Aoyagi T, Hatta M, Endo S, Tokuda K, Weber DJ, Nakamura Y, Saiki Y, Kaku M: A case of culture-negative endocarditis due to *Streptococcus tigurinus*. *J Infect Chemother* 21: 138-140, 2015 査読有

DOI: 10.1016/j.jiac.2014.08.014.

Kanamori H, Yano H, Tanouchi A, Kakuta R, Endo S, Ichimura S, Ogawa M, Shimojima M, Inomata S, Ozawa D, Aoyagi T, Weber DJ, Kaku M: Prevalence of Smqnr and

plasmid-mediated quinolone resistance determinants in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* from Japan: novel variants of Smqnr. *New Microbes New Infect* (in press) 査読有  
Ozawa D, Yano H, Endo S, Hidaka H, Kakuta R, Okitsu N, Kanamori H, Ogawa M, Ichimura S, Shimojima M, Inomata S, Kaku M, and Katori Y: Impact of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on acute otitis media in Japanese children: Emergence of serotype 15A multi-drug resistant *Streptococcus pneumoniae* in middle ear fluid isolates. *Pediatr Infect Dis J* (in press) 査読有

[学会発表](計 8 件)

Yano H, Tanouchi A, Endo S, Kanamori H, Aoyagi T, Hatta M, Gu Y, Tokuda K, Kitagawa M, and Kaku M: Molecular epidemiology and characteristics of extended-spectrum

$\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in the Japanese clinical setting. 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, May 12, 2014

Endo S, Nemoto T, Yano H, Kanamori H, Aoyagi T, Hatta M, Gu Y, Tokuda K, Kitagawa M, and Kaku M: First confirmed case of spondylodiscitis and epidural abscess due to *Parvimonas micra*: review of *Parvimonas micra* infection. 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, May 10-13, 2014

Inomata S, Tokuda K, Yano H, Ishizawa C, Endo S, Kanamori H, Aoyagi T, Hatta M, Gu Y, and Kaku M: One-year epidemiological and molecular analysis of community- and hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary hospital in Japan using phage open-reading frame typing. 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, May 10-13, 2014

Kakuta R, Yano H, Hidaka H, Ogawa M, Tanouchi A, Ozawa D, Endo S, Kanamori H, Kaku M, and Katori Y: Characterisation of ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* isolates in middle ear fluid from Japanese children with acute otitis media. 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID),

Barcelona, May 12, 2014  
Endo S, Yano H, Kanamori H, Inomata S, Aoyagi T, Hatta M, Gu Y, Tokuda K, Kitagawa M, and Kaku M: Molecular epidemiology of *Acinetobacter* spp. causing bacteraemia in Japanese community hospitals. 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, May 12, 2014

矢野寿一：小児耳鼻咽喉科領域におけるインフルエンザ菌のトピックス、第9回小児耳鼻咽喉科学会（招待講演）浜松、2014年6月7日

矢野寿一：感染症の新しい検査法、新しい検査とこれまでの検査の共存、第88回日本感染症学会学術講演会・第62回日本化学療法学会総会合同学会（招待講演）福岡、2014年6月20日

矢野寿一：小児気道感染症におけるインフルエンザ菌のトピックス、第26回日本臨床微生物学会総会（招待講演）東京、2015年1月31日

〔図書〕（計 1 件）

小澤大樹、矢野寿一：感染症診療 update、急性副鼻腔炎、p101-102、編集；岩田敏、岩本愛吉、大曲貴夫、齋藤昭彦、竹末芳生、日本医師会、東京、2014年10月15日発行

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢野 寿一 (Yano Hisakazu)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：20374944

(2) 研究分担者

國島 広之 (Kunishima Hiroyuki)

聖マリアンナ医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60339843

(3) 研究協力者

猪股 真也 (Inomata Shinya)