

機関番号： 32620
 研究種目： 基盤研究 C
 研究期間： 2008 ～ 2010
 課題番号： 20590658
 研究課題名（和文）健康な子供および成人から分離される市中型 MRSA の分子疫学的解析とその動向
 研究課題名（英文）Trends and Molecular Epidemiological Analysis of Community-associated MRSA isolated from healthy children and adults
 研究代表者 桑原 京子 (KUWAHARA KYOKO)
 順天堂大学・医学部・准教授
 研究者番号： 10167976

研究成果の概要（和文）：2008 年から 2010 年までの 3 年間に健康な子供（のべ 384 人）、大学生（278 人）、感染管理看護師（58 人）について鼻腔に存在するブドウ球菌の調査を行った。健康な子供および成人ではメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の保有率はおおよそ 1% であった。一方耐性のコアグララーゼ陰性ブドウ球菌（MRC-NS）の保有率はそれぞれ 38.5%, 38.9%, 77.5% であった。特に市中の MRSA の増加傾向は見られなかった。

研究成果の概要（英文）： Healthy children during the three years from 2008 to 2010 (total 384 persons), college students (278), infection control nurse (58) conducted a survey of staphylococci carried in the nasal cavity. In healthy children and adults were methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) carrier approximately 1%, Whereas rate of resistant coagulase-negative staphylococci (MRC-NS) were 38.5%, 15.3% and 77.5%, respectively. Especially the increase of MRSA was not observed in the community.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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： CA-MRSA MRC-NS SCCmec

1. 研究開始当初の背景

1961 年に英国で初めてメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)が報告されて以来、医療現場で蔓延をつづけ、現在も病院感染の起因菌として临床上重要な菌である。1980 年になると米国で市中感染が報告され、1990 年以降世

界各地で報告されるようになった。現在では市中でも医療現場でも蔓延する MRSA (hospital-associated MRSA; HA-MRSA) と、市中獲得型 MRSA (community-associated MRSA; CA-MRSA) を区別されるようになった。日本においても CA-MRSA の感染報告がなされ、今なお MRSA の感染拡大が危惧されている。

2. 研究の目的

世界中で CA-MRSA の拡大が危惧される中で、日本においてもどの程度市中に MRSA が存在するのか。現状を把握することが目的である。本研究では健康な子供、大学生、そして感染管理に従事する看護師の鼻腔に存在するブドウ球菌の保有を調べた。MRSA だけではなくメチシリン耐性遺伝子 *mecA* を保有するブドウ球菌についても調査を行った。また、3年間連続して調査を行い、その動向を監視することを目的とした。その結果を広く世間に公表することで、抗生物質を扱っている医療、家畜、農業関係者、などに注意を促し講じていく。

3. 研究の方法

1) 対象：東京の保育園の園児(0~6歳)から滅菌綿棒を用いて検体を採取した。また、20歳代の健康な学生、毎年同様に検体を採取した。感染管理の看護師からも採取した。アンケート調査：保育園児に対しては検体の採取と同時にアンケートを実施した。内容としては、検査以前一か月間での抗生物質の投与の有無、その種類、アトピーの有無、病院受診の有無を確認した。各園医との連携をとりながらおこなった。

2) サンプルの同定：検体は血液寒天平板とマンニト食塩培地に塗布し、黄色いコロニーを釣菌し、colony isolation を行った後、コアグラージェテスト、スタフィログラムなどを用いて菌種を確定する。同定が難しい場合は、16SrRNA のシーケンスを行い、確定した。

3) 薬剤感受性：ceftizoxim, ampicillin, oxacillin, imipenem, tetracycline, erythromycin, new quinolone, vancomycin などの抗生物質を用いて NCLS 法に準じた方法で、感受性テストを行った。

4) SCC*mec* のタイピング：メチシリン耐性の株については、PBP2' の検出、*mecA* 遺伝子の PCR によりその同定を確定すると同時に、*mecI* の有無、1S1272 の有無、*ccrA, B* のタイピングを組み合わせて、SCC*mec* のタイプを決定し、既存の4種の SCC*mec* と比較した。

5) 分子疫学的解析：次に、染色体全体のタイピングを PFGE, MLST を行い、今までに行ってきた調査で既存の C-MRSA 株、病院型の MRSA (H-MRSA) と比較した。

4. 研究成果

1) 実施時期と対象 東京都内の K 保育園に通う園児 (1~6歳) については、2008年の1月、9月、2009年の9月、2010年の9月の4回行った。それぞれ、94人、91人、101人、98人のべ384人について行った。大学生は、2008年6月、2009年6月、2010年5月に行った。それぞれ97人、94人、87人について行った。看護師については、2008年7月、2009年7月に行った。それぞれ30

人、28人について行った。

2) MRSA および MRC-NS の保有

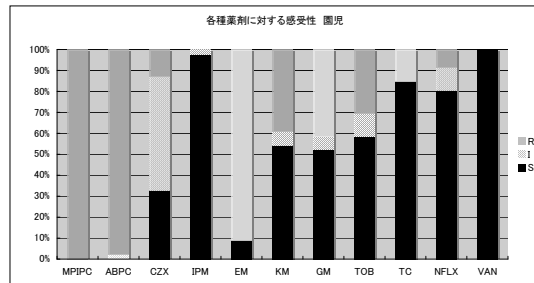
今回の調査で MRSA を保有していた人は非常に少なかった。保育園児からは2回目調査で1人、3回目で2人、4回目で1人であった。大学生からは2008年1人、2009年2人、2010年1人であった。看護師からは0人であった。健康な人から分離される MRSA は100人で1ないし2人であった。

一方 MRC-NS は保育園児において2008年1月の調査では23%、9月では48.1% 2009年9月では、51.1%、2010年9月では32% で平均すると38.5% であった。大学生では2008年31.9%、2009年50%、2010年32%であった。また、看護師では2009年77.3%、2010年82.1% であった。

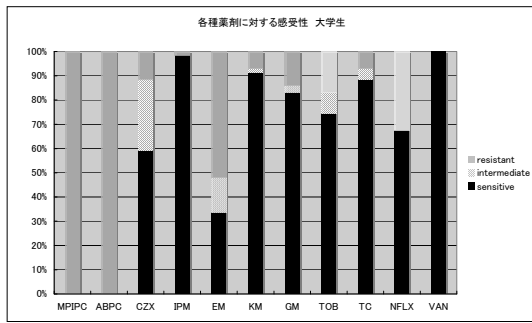
		人数	MRSA	MRC-NS
園児	2008年冬	94	0(0%)	22(23.4%)
	2008年夏	91	1(1%)	44(48.1%)
	2009年夏	101	2(1.9%)	48(51.1%)
	2010年夏	98	1(1%)	31(31.6%)
大学生	2008年夏	97	1(1%)	31(31.9%)
	2009年夏	94	2(2.1%)	47(50.0%)
	2010年夏	87	1(1.1%)	28(32.1%)
看護師	2008年夏	30	0(0%)	22(77.3%)
	2009年夏	28	0(0%)	23(82.1%)

3) 分離された耐性株の薬剤感受性

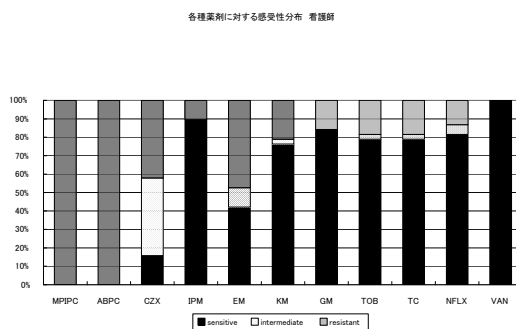
図に示したように園児から分離された耐性のブドウ球菌(MRS)は vancomycin 感受性、imipenem 感受性であった。erythromycin に90%耐性であった。小児科領域では macrolide 系抗生物質が頻繁に使用されるため、耐性率が高いと考えられた。



大学生では、erythromycin に耐性の株は約70%、Norfloxacin に耐性の菌が30%存在した。



看護師から分離された耐性株では、imipenemに耐性の株が10%、erythromycinに耐性の株は50%であった。



4) 分離された MRSA

今回分離された MRSA は、園児から 4 株、大学生から 4 株であった。SCCmec typing の分類では、IIb または IV 型に分類されるもので、いずれも CA-MRSA と確認されるものであった。毒素遺伝子については、PVL, et TSST-1 について調べたが無かった。MLST 解析すると、ST89 CC91, ST88 CC78, ST91 CC91 であった。PFGE を行うと、似通ったパターンのももあったが、一致するものは無かった。これらのタイプの菌は、2002 年に仙台の保育園児から初めて分離された type の MRSA と同じであり、京都の保育園児からも分離されていたことより、日本特有の市中獲得型 MRSA の一つであり、全国に広がっていることが示唆された。しかし、2 回続けて検出された人はいなかったことから、MRSA は、定着してはいたものの通過菌であった。もしくは定着していても検出限界以下に消失していたと考えられた。これは、病院内感染、患部に定着した菌と大きく異なる点である。

5) 分離された MRC-NS

最も多く分離される菌種は *S. epidermidis* で、MRC-NS のうち約 77%~83.1% であった。Type IV 型の SCCmec を持つ表皮ブドウ球菌が最も多く分離され、次に多かったものが type V 型の SCCmec を持つ CNS であった。いずれも市中に蔓延するタイプである。病院型の物は 1%未満であった。*S. epidermidis* の次に多かったのは *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus* であった。各クラスで同じタイプの CNS が検出されたが、PFGE を行うと似通っているものもあったが、厳密に比較

すると異なっていた。クラス内感染があったかどうかは確定できなかった。3 回とも調査に参加した 47 人のうち、3 回とも耐性菌が検出された人は 1 人のみであった。また、2 回続けて検出された子供でも、1 回目と 2 回目では異なる菌種や、同じものであっても、薬剤感受性、SCCmec type, PFGE がパターンが異なっていた。健康な子供鼻腔には、長期間同一の MRC-NS が定着することはなかった。

2002 年に調査した結果 MRC-NS の検出率は、15~47% であった。今回園児からは 23~51% であることから、若干の増加は見られる物の、大きな変動はないと考えられた。大学生においても、30~50% であるので、増加傾向に有るかどうかは、今後続けていかないと分からない。看護師については、明らかに一般の健康人と区別され、優位に耐性の MRC-NS が検出された。

2) アンケート結果

各園児の親から同意書を提出していただいたと同時に簡単なアンケートをおこなった。回収率は 98% であった。

1 ヶ月以内に通院したことがある人は、全体で 63.3% であった。

	通院回数 2010 8~9 月				
	0 回	1 回	2 回	3 回	4 回
0 歳クラス	2	5	1	1	2
1 歳クラス	4	7	4	2	0
2 歳クラス	6	7	2	1	0
3 歳クラス	7	8	2	1	0
4 歳クラス	9	5	0	0	0
5 歳クラス	8	8	2	0	0

1 ヶ月以内に通院した人は、クラスごとでは 35.7%~81.8% で、0 歳児クラスで最高 4 回であった。夏休みから 9 月初旬ということもあって、冬場に比べれば、少ないと思われる。

1 ヶ月以内に罹患した疾患 2010 (8-9 月)	
疾患名	件数
風邪	7
中耳炎	2
とびひ	2
虫さされ	2
アレルギー性結膜炎	2
喘息	1
突発性発疹	1
ヘルパンギーナ	1

表は、2010年の罹患した疾患であるが、風邪が一番多く7件であった。次に中耳炎とびひ、虫さされ、アレルギー性疾患の2件であった。2009年度では、風邪に続き、気管支炎、中耳炎、マイコプラズマ感染で通院した人がいた。その年は新型のインフルエンザが流行していたことも有り、呼吸器系の疾患が多かったかもしれない反面、玄関先での手洗い等の意識が大変高まっていたため、ブドウ球菌の園内、クラス内感染が少なかったことが影響していると考えられた。

1ヶ月以内に服用した薬名(2010 8~9)	
薬剤	件数
メイアクト	5
クラリシッド	3
エリスロシン	3
フロモックス	3
セフゾン	1
バナン	1

2010年のアンケート結果では、セフェム系抗生物質の使用は10件であった。使用されていた薬品名はメイアクト、フロモックス、セフゾン、バナンであり、一般的によく使用される抗生物質である。マクロライド系は、6件であった。通院者18人のうち、16人で何らかの抗生物質を使用していた。保育園児の場合家庭でゆっくり休むことができないケースもあり、風邪等でも早期に抗生物質を投与するケースがみられた。

5) 考察

定点で、3年間に渡り調査したことより、一人の子供から数回サンプルを取ることができ、経時的変化も観察することができた。その結果鼻腔には長期間遺伝的に同じ種類のブドウ球菌が定着していないことが分かった。今回の調査では、危惧されるようなMRSAの広がりや、見られなかった。健康な成人も子供もMRSAの検出はおおよそ1~2%と2002年におこなった仙台の調査に比べ低かった。規模が小さすぎたかもしれないところは否めないが、看護師も含め成人においても1~2%という結果が得られていることは、少なくとも市中にMRSA患者が続出するほど存在しているとは考えにくかった。ただし、今回検出されたMRSAは、2002年に確認されたものと同じ遺伝的タイプのMRSAであったことから、検出できなくても、環境中に存在している可能性が残った。その背景には、耐性遺伝子を持つCNSがMRSAよりかなり高い割合で子供成人に拘らず存在していたこと。また、抗生物質を使用している環境にいる看護師により高い割合で検出されたことから、CNSがリザーバーと成っている可能性が示唆された。

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 件)

〔学会発表〕(計 2件)
 健康な子供の鼻腔に存在するメチシリン耐性ブドウ球菌の調査
 桑原京子、椿下早絵、廣瀧慎一郎、清水俊明、平松啓一
 順天堂大学 医学部 細菌学、感染制御科学、小児科
 感染症学会 2008年 東京

東京都内某保育園の子供から分離されたMRSAおよびMRC-NSの分子疫学的解析
 桑原京子、椿下早絵、廣瀧慎一郎、清水俊明、平松啓一
 順天堂大学 医学部 細菌学、感染制御科学、小児科
 化学療法学会 2008 東京

6. 研究組織

- (1) 研究代表者 桑原京子 (KUWAHARA KYOKO)
 順天堂大学・医学部・准教授
 研究者番号：10167976
- (2) 研究分担者 清水俊明 (SHIMIZU TOSHIAKI)
 順天堂大学・医学部・教授
 研究者番号：30260889
- (3) 連携研究者
 なし