

県内における市中感染型 MRSA の遺伝子的特徴の検索

山上隆也 柳本恵太 植松香星 久田美子 荻原真二* 井上 修*

Molecular Analysis of Community-acquired Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Yamanashi

Takaya YAMAGAMI, Keita YANAGIMOTO, Kosei UEMATSU, Yoshiko HISADA
Shinji OGIHARA and Osamu INOUE

キーワード：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、市中感染型 MRSA、USA300、遺伝子解析

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, 以下MRSA) はメチシリンなどのペニシリン剤をはじめ、 β -ラクタム剤、アミノ配糖体剤、マクロライド剤など多くの薬剤に対して耐性を示す黄色ブドウ球菌である。MRSAは院内感染の主要な原因菌である院内感染型MRSA (hospital-acquired MRSA, 以下HA-MRSA) の他に、地域で感染・流行する市中感染型MRSA (community-acquired MRSA, 以下CA-MRSA) による感染症が近年、世界的に注目されている。

HA-MRSAは、臨床的には入院48時間以後に分離されるもの、細菌学的にはメチシリン耐性遺伝子を含むSCC*mec*領域の遺伝子型が主にtypeIIのものと定義される。CA-MRSAは、臨床的には入院歴や医療行為などによる院内感染関連リスクのない人から分離されるもの、細菌学的にはSCC*mec*領域の遺伝子型が主にtypeIVのものと定義される(表1)¹⁾。

欧米で検出されるCA-MRSAは白血球溶解毒素 (PVL) 産生株が多いとされ、なかでも米国流行株のUSA300は、高病原性で、PVL遺伝子やアルギニン代謝系遺伝子構造 (A CME) など遺伝子的な特徴を持つとされる。これに対して

国内で分離されるCA-MRSAは、従来ではPVL産生株は少ないとされてきたが²⁾、近年ではPVL産生株が増加傾向であるなど、遺伝子的特徴に変化がみられていることが指摘されている¹⁾。

県内では、流行するMRSAについての遺伝子解析に関する報告はなく、その流行の詳細については把握できていない。そこで、県内におけるCA-MRSAの検出状況、遺伝子的特徴を把握することを目的に、県内医療機関で分離されたMRSAの遺伝子解析を実施した。

対象と方法

1 対象菌株

山梨大学医学部附属病院で2016から2017年に分離されたMRSA 252株を対象とした。

2 遺伝子解析方法

(1) CA-MRSAとHA-MRSAの鑑別

市販のキット製品「Cica Geneus Staph POT Kit」(関

表1 院内感染型MRSA と市中感染型MRSA の比較

	院内感染型MRSA (HA-MRSA)	市中感染型MRSA (CA-MRSA)
臨床的定義	入院患者から分離されるもの	市中の健康人から分離されるもの
細菌学的定義 (SCC <i>mec</i> による分類)	主にtype II	主にtypeIV
主なクローン	NewYork/Japan	USA300
毒素	種々の毒素	PVLが特徴的
流行の場所	院内	学校、幼稚園、家庭
感染者の年齢	主に高齢者	主に若年者、小児
感染部位	各種臓器	主に皮膚、軟部組織
薬剤感受性	多剤耐性	比較的感性
治療経過	難治性	比較的良好

文献1) より改変引用

* 山梨大学医学部附属病院

東化学)を用いてPhage ORF typing (POT) 法により行った。POT法は、MRSA遺伝子の異なる3つの領域 (POT1~3) を解析対象とする分子疫学解析手法であり、結果は各領域について数値で表され、同一菌株であれば3領域の数値が全て一致する。また、POT1の数値がSCC_{mec}と関連することを利用して、CA-MRSA (SCC_{mec}Type IV)、HA-MRSA (SCC_{mec}Type II) の鑑別を行った³⁾。

(2) PVL産生株、USA300株の同定

USA300株に特徴的な病原性関連遺伝子であるPVL遺伝子、ACMEをPCR法で検索した。PVL遺伝子陽性株 (PVL産生株)、ACME陽性株およびPOT法でUSA300株と同一パターンの株についてはUSA300株の可能性を考え、制限酵素Sma Iによるパルスフィールドゲル電気泳動を実施し、USA300標準株 (ATCC BAA-1556) と同一もしくは類似パターン (相同性80%) のものをUSA300株と同定した。

結果

1 CA-MRSAとHA-MRSAの鑑別

POT法による鑑別結果を表2に示した。CA-MRSAは153株 (60.7%)、HA-MRSAは80株 (31.7%)、鑑別不能19株 (7.5%) であった。市中感染が疑われる外来・入院48時間以内分離株、院内感染が疑われる入院48時間以降分離株のいずれもCA-MRSAがHA-MRSAより多く検出された。

2 PVL産生株、USA300株の同定

PVL産生株は40株 (15.9%) であり、すべてCA-MRSAであった。また、パルスフィールドゲル電気泳動で39株 (15.5%) がUSA300株と同定された (図)。

考察

国内ではPVL非産生CA-MRSAが「とびひ」と関連して広く分布し、PVL産生CA-MRSAやUSA300株は希と考えられてきた^{2,4)}。国内のPVL産生CA-MRSAの検出率は3~5%、USA300株の検出率は1.2%と報告されており^{1,5)}、今回の結果から、県内において高病原性CA-MRSAであるPVL産生株やUSA300株が高率に分布している可能性が示唆された。

PVL産生CA-MRSAは、壊死性肺炎による死亡率が75%に達するといわれており、国内でも増加傾向にあることから、流行拡大が危惧されている⁵⁾。欧米では特にUSA300株による侵襲性感染症の増加が問題となっており、国内でも散見されてきている⁶⁾。今回、県内においてUSA300株が高率に検出されたことから、今後も継続して発生動向を把握していくことが重要である。さらに、MLST法による、より詳細な遺伝子解析を実施して、県内広域的なCA-MRSA感染症の発生動向を調査することが必要と思われる。

表2 POT法による市中感染型MRSAの鑑別結果

判定結果	外来・入院48時間以内分離株	入院48時間以降分離株	不明	計
市中感染型MRSA (CA-MRSA)	86	65	2	153
院内感染型MRSA (HA-MRSA)	33	46	1	80
不明	12	7	0	19
計	131	118	3	252

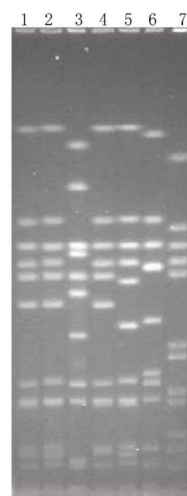


図 MRSAのパルスフィールドゲル電気泳動パターン
レーン1: USA300標準株 レーン2~7: 臨床検体由来菌株

参考文献

- 1) MRSA感染症の治療ガイドライン2017年改訂版
- 2) 山本達男: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA), モダンメディア, **54**, 95-103 (2008)
- 3) 鈴木匡弘: Cica Geneus Staph POT Kitの原理とメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の分子疫学, THE CHEMICAL TIMES, **221**, 16-21 (2011)
- 4) 山本達男: Pantone-Valentineロイコシジン陽性の市中感染型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の出現, 日本化学療法学会誌, **52**, 635-653 (2004)
- 5) Takadama S, et al.: Dissemination of Pantone-Valentine leucocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone in multiple hospitals in Tokyo, Japan, Clin. Microbiol. Infect., **24**, 1211.e1-1211.e7 (2018)
- 6) 堀越裕歩ら: 東京都、新潟県、沖縄県におけるUSA300株による侵襲性MRSA感染症の乳児例, 病原微生物検出情報 (IASR) 月報, **39**, 124-125 (2018)