

原 著

mecA 陽性ブドウ球菌の本学学生からの検出と青年期における
分布状況の推測

引 頭 毅 猪 俣 恵 堀 江 俊 村 上 幸 孝

Detection of *mecA*-positive staphylococci among the students of Asahi University and investigation of their dissemination during adolescence

INTO TAKESHI, INOMATA MEGUMI, HORIE TOSHI and MURAKAMI YUKITAKA

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 等の β -ラクタム耐性ブドウ球菌は院内感染や市中感染における公衆衛生上重要な多剤耐性菌である。 β -ラクタム耐性の獲得は *mecA* 遺伝子を運ぶ可動性染色体カセット SCC*mec* により媒介されている。本研究では、本学学生140人を被験者として *mecA* 陽性ブドウ球菌の検出を行い、青年期における分布状況の推測を行うことを目的とした。各被験者から鼻腔検体を採取し、 β -ラクタム薬セフォキシチンを含む選択分離培地で培養後、検出された β -ラクタム耐性菌についてPCR法で *mecA* の有無を調べた。また被験者の鼻腔検体はブドウ球菌の選択培地でも培養され、*mecA* 陽性ブドウ球菌がどの程度常在菌として優勢なのか推察した。結果として140人中12人 (8.6%) から *mecA* 陽性ブドウ球菌が検出された。これら被験者の中にはMRSAを鼻腔常在ブドウ球菌のメジャーポピュレーションとして、あるいはマイナーポピュレーションとして保菌している可能性のある者が含まれていた。他研究グループによる過去の調査を加味して考慮すると、青年期人口における *mecA* 陽性ブドウ球菌の保菌者は1割程度の割合で存在すると考えられる。MRSA等の多剤耐性菌の市中感染は増加の一途を辿ることが警戒されており、感染拡大の防止対策を打ち立てるためにも *mecA* 陽性ブドウ球菌の動態調査を積極的に行うことが重要であると思われる。

キーワード：*mecA*、ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA)、 β -ラクタム薬、青年期

*β -Lactam-resistant staphylococci, including methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA), are multi-drug resistant bacteria that cause important public health problems in nosocomial and community-acquired infections. β -Lactam resistance is achieved through the acquisition of staphylococcal cassette chromosome mec (SCC*mec*), a gene transfer vehicle that carries *mecA*. In this study, we aimed to detect the carriers of *mecA*-positive staphylococci among 140 students of this university and aimed to describe the dissemination of *mecA*-positive staphylococci during adolescence. Nasal swab specimens were collected; they were inoculated and cultured on selective agar media containing cefoxitin. Detection of *mecA* in β -lactam-resistant colonies was performed using polymerase chain reaction. The specimens were also inoculated and cultured on selective agar media for isolation of streptococci to evaluate the influence of *mecA*-positive staphylococci among the normal staphylococcal flora of the nasal cavity. As a result, *mecA*-positive staphylococci were detected in 12 subjects (8.6%). These subjects included possible MRSA carriers (i.e., those who possess MRSA as the major staphylococcal flora or the minor staphylococcal flora of their nasal cavity). Taking the observation of other studies into account, these results suggest that nearly 10% of adolescents in Japan are carriers of *mecA*-positive staphylococci. Since increases in community-acquired infections of multi-drug resistant bacteria, including MRSA, have been documented, it is important to actively monitor the dissemination of *mecA*-positive staphylococci to prevent the spread of their infections.*

Key words: *mecA*, staphylococci, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), β -lactam drugs, adolescence

緒 言

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA) は院内感染における重要な日和見感染, あるいは外因感染の起原因菌であり, 多剤耐性菌の代表格である. MRSA は1961年に英国で確認され, その後世界各地に徐々に広がり, 1970年代後半には海外の医療現場で脅威となり始めた¹⁾. 本邦で問題となり始めたのは1980年代後半からであったが, 当時の医療施設での分離率は1割には満たないと推定されている¹⁾. しかし現在では, 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業の検査部門2015年報によると²⁾, 調査対象の1,435の医療機関全てにおいてMRSAが分離されている. また患者からのMRSAの分離率は, 検体提出者2,551,541人中で6.64%であり, これは近年減少傾向にあるとは言え, 検出される薬剤耐性菌としては最多である²⁾. 現状で日本は米国と並んでMRSA高汚染国であるとも言われている^{3,4)}. またMRSAはヒトだけでなく, 動物でも伝播するため, 人獣共通感染症の病原体としての認識も必要であり, ヒトから家畜動物, 家畜動物からヒトへの感染も徐々に拡大しているとみるべきである.

病院施設から検出される院内感染型MRSA (hospital-associated MRSA: HA-MRSA) とは別に, 市中環境から分離される市中感染型MRSA (community-acquired MRSA: CA-MRSA) も存在する. CA-MRSAは1980年代後半から米国で確認されるようになり, 1999年頃から注目され始めた⁵⁾. 特に外毒素Panton-Valentineロイコシジン (PVL) を産生するCA-MRSAは強病原性であり, 健常者にも感染症を引き起こす. PVL陽性CA-MRSAは国内でまだ大きな広がりには至っていないようだが, 米国ハワイ, インドなどへの海外渡航者による輸入例など感染例が着実に確認されつつある⁶⁾. またPVL陰性のCA-MRSAは各地で分布が見られ, 固有集団での不顕性感染等を介して広がりつつあるとみられる⁶⁾. さらに, メチシリン耐性を獲得した表皮ブドウ球菌 (methicillin-resistant *S. epidermidis*: MRSE) は患者検体や臨床試料などから検出されることも少なくなく, MRSAと同様に市中にも分布し, 健常人の保菌を介して広がりつつあるとみられ, こちらも注意されるべき菌種である⁷⁾.

ブドウ球菌におけるメチシリン耐性は β -ラクタム薬が結合できないペプチドグリカン合成酵素 (PBP2') の

産生に依存しており^{8,9)}, PBP2' は *mecA* 遺伝子によりコードされている¹⁰⁾. *mecA* はこれを運ぶ可動性染色体カセットである staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) 中に含まれており, つまりブドウ球菌のメチシリン耐性は SCC*mec* によって媒介されている¹¹⁾. SCC*mec* には菌種間・菌種内での多様性がみられ, 現在少なくとも11種類のタイプ (I~XI) が存在しており, MRSA を含むメチシリン耐性ブドウ球菌の遺伝型分類の解析等に利用されている¹²⁾. 例えば, I~III型の SCC*mec* は HA-MRSA に主にみられ, またIV~VI型の SCC*mec* は CA-MRSA でみられる. SCC*mec* の起源については長らく不明であったが, ヤギなどの家畜や野生動物でみられるブドウ球菌種 *S. fleurettii* が有する自然遺伝子に由来することが近年明らかとなり¹³⁾, この菌種から他のブドウ球菌種へ SCC*mec* の伝播が起こり, 多くのブドウ球菌種へと広がっていったと考えられる¹²⁾. *S. aureus* はヒトからも動物からも頻りに分離される常在菌種であることから, *S. fleurettii* の SCC*mec* が共棲していた *S. aureus* へと伝播し, これがヤギなどの家畜からヒトへ伝播して定着, さらに SCC*mec* は表皮ブドウ球菌などの他ブドウ球菌種へ遺伝子構成を変えながら広がってきたことが伺える. また, 獲得した SCC*mec* から新たな SCC*mec* を作りだすことが可能な *Staphylococcus* 属に近縁の *Micrococcus* 属菌の存在も注目されており, 新しいタイプの SCC*mec* が次々に生み出されて伝播され, 新たな強病原株が生まれる可能性が懸念されている¹²⁾. いずれにせよ, 人類が β -ラクタム薬を盛んに使用し始めたことをきっかけに, 感受性ブドウ球菌が淘汰され, 菌交代現象により耐性常在菌が増幅された結果, 水平伝播がより拡大してきたと考えられる.

上記のような背景から純粋に疑問に浮かぶのは, MRSA高汚染国といわれる本邦で公衆衛生上重要と思われる *mecA* 陽性ブドウ球菌がどの程度分布しているのかということである. 医療従事者や患者ではMRSA保菌率が調査されているようであるが, 市中における健常者での分布状況こそ汚染度を推し量る上で重要だと思われる. MRSAに限定すると国内の成人で1%程度が保菌しているとの記述もあるが¹⁴⁾, 詳細については不明である. 一方, 中畑らの報告¹⁵⁾ では, 2011~2012年の期間で地域間格差が少ないと考えられる特定大学に所属する大学生の一集団 (146人) を対象として SCC*mec* を有するMRSAとMRSEの保菌率を調査した結果, それぞれ2人 (1.4%) と19人 (13.0%)

であり、合わせるとかなり高い割合で *mecA* 陽性ブドウ球菌の保菌者が存在する可能性が伺える。そこで本研究では、本学学生を対象とし、鼻腔検体から β -ラクタム薬（セフォキシチン）を含む選択分離培地で耐性ブドウ球菌を分離し、*mecA* 陽性菌がどの程度の被験者から検出されるかを調査したので報告する。本学学生の出身地は東海地方をはじめ近畿、北陸やその他の都道府県も広く含まれ、地域間格差を考慮する上では有利である。対象学生のほとんどは青年期であることから、結果から青年期における *mecA* 陽性ブドウ球菌の分布状況を推測してみたいと考えている。

研究対象および方法

1. 被検者と倫理面の配慮

本研究への協力に同意した本学学生140名（男性93名、女性47名）を被検者とした。被検者の平均年齢は 21.14 ± 2.87 歳（男性 21.36 ± 3.08 歳、女性 20.39 ± 1.76 歳）であり、うち133名（95.0%）は青年期（15から25歳）に相当する。被験者からは性別と年齢のみを情報として収集し、匿名での調査とした。なお本調査はすべて2016年10月中に行われた。本研究は朝日大学歯学部倫理委員会の承認（承認番号第27019号）を受け、被検者には本研究の目的と内容を説明し、同意書を得た上で実施した。

2. 鼻腔検体からの β -ラクタム耐性ブドウ球菌の培養

鼻腔検体の採取は BD BBL™ カルチャースワブ EZ/EZ II（日本ベクトン・ディッキンソン、東京）を用いて行った。採取は被検者自身が行ったが、採取前に検体採取法に関して指導を行った。採取した検体は直ちに BD BBL™ クロムアガー MRSA II 寒天培地（日本ベクトン・ディッキンソン；以下クロムアガー MRSA II 培地）の全面に均一に塗布させた。本培地はセフォキシチンを含む MRSA の選択分離培地であるが、黄色ブドウ球菌以外のブドウ球菌種も培養される¹⁶⁾。培地上に形成されたコロニーが赤紫色（藤色）を呈する場合にブドウ球菌種と判定できる。その他の細菌は生育しないか、あるいは生育しても他の色調を呈するコロニーとなる。被検者には再度同様に鼻腔検体を採取させ、マンニット食塩培地（コージンバイオ、坂戸）の全面に均一に塗布させた。両培地とも37℃で一昼夜好氣的に培養した。培養後のクロムアガー MRSA II 培地上には様々な色を呈するコロニーが観察されたが、本研究では検者が赤色～紫色を呈していると判断したコロニーについてのみ *mecA* 陽性ブドウ球菌の可能性有りとして判定した。またマンニット食塩培地上で培地の黄変を伴って形成された黄色コロ

ニーを黄色ブドウ球菌、培地の変色を伴わない白色のコロニーはその他のブドウ球菌として判定した。

3. PCR 法による *mecA* の検出

クロムアガー MRSA II 培地上で *mecA* 陽性ブドウ球菌の可能性有りとして判定された β -ラクタム耐性菌について、1被験者あたり1菌株を採取し、コロニーダイレクト PCR 法による *mecA* の検出を行った。国立感染症研究所発行の病原体検出マニュアル（平成28年12月改訂版¹⁷⁾を参照し、フォワードプライマーは TGCTATCCACCCCTCAAACAGG (5'→3')、リバースプライマーは AACGTTGTAACCAACCCCAAGA (5'→3') の配列を用い、最終濃度 $1 \mu\text{M}$ にて使用した。DNA ポリメラーゼは Quick Taq™ HS DyeMix（東洋紡、大阪）を用いた。PCR の条件は94℃での熱変性を10秒、57℃でのアニーリングを10秒、68℃での伸長反応を30秒のサイクルを32回とした。PCR は T100™ サーマルサイクラー（バイオ・ラッドラボラトリーズ、Hercules, CA, USA）にて行った。増幅産物の可視化は2%アガロースゲル電気泳動により行った。

4. 薬剤感受性試験

mecA 陽性ブドウ球菌の可能性有りとして判定された一部の菌株について Kirby Bauer ディスク法¹⁸⁾に基づいた薬剤感受性試験を実施した。また陽性コントロールとして表皮ブドウ球菌の標準株 (*S. epidermidis* ATCC 700576) でも同様に試験を行った。ミューラーヒントン寒天培地はコージンバイオから購入した。薬剤ディスクはベンジルペニシリン(PC;栄研化学、東京)とストレプトマイシン10 (S10;日本ベクトン・ディッキンソン)を用いた。各ディスクの取扱い指示に従い、PCでは直径29 mm 未満の阻止円を耐性、またS10では直径14 mm 未満の阻止円を耐性として判定した。

結果

1. 鼻腔検体からの培養法による β -ラクタム耐性ブドウ球菌の検出

本研究では140名の被験者が鼻腔検体を採取し、MRSA の選択培地であるクロムアガー MRSA II 培地で培養することで β -ラクタム耐性ブドウ球菌の検出を試みた。これに並行してマンニット食塩培地でも検体を培養することでブドウ球菌の検出も行った。これにより、単に β -ラクタム耐性ブドウ球菌の保菌の有無のみならず、生息数の多少や、鼻腔常在ブドウ球菌中における割合の多少についても推測することが可能である。クロムアガー MRSA II 培地上で β -ラクタム耐性ブドウ球菌が増殖した場合には赤紫色（あ

表1. クロムアガー MRSA II培地で赤～紫色のコロニー形成がみられた16名の被験者の各培地上のコロニー数ならびに *mecA* 遺伝子の検出状況

被験者 番号	クロムアガー MRSA II培地 ¹	マンニット食塩培地 ²		<i>mecA</i>
		黄色 ³	白色 ⁴	
1	+	-	+++++	+
2	++	+++++	++	+
3	+	-	+++	-
4	+	-	+++++	+
5	+	-	++++	+
6	++	+++++	++	+
7	+	-	++++	+
8	+	-	++++	-
9	+	-	++++	+
10	+	+++	-	-
11	+	-	+++++	+
12	++	+++++	+	+
13	+	-	++++	+
14	+++++	+++++	++	+
15	+	-	+++	-
16	+	-	++++	+

¹ クロムアガーMRSA II培地上の赤～紫色のコロニー数
+ : 1~4, ++ : 5~19, +++ : 20~49, ++++ : 50~99,
+++++ : 100以上

² マンニット食塩培地上のコロニー数
+ : 1~4, ++ : 5~19, +++ : 20~49, ++++ : 50~99,
+++++ : 100以上

³ 培地黄変を伴う黄色コロニー

⁴ 培地変色を伴わない白色コロニー

クロムアガーMRSA II培地 マンニット食塩培地

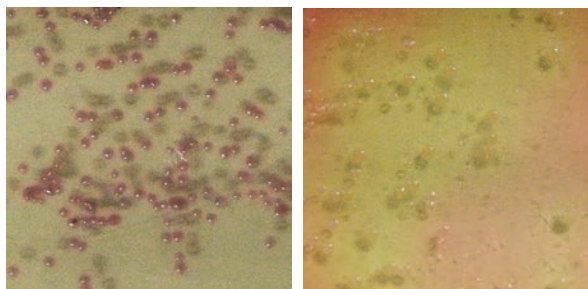


図1. 寒天平板上に形成されたコロニー
被験者14の鼻腔検体からクロムアガー MRSA II培地で培養された赤紫色を呈する多数のコロニー (左) ならびに同検体からマンニット食塩寒天培地で培養された培地の黄変を伴う黄色コロニー (右) を示す。マンニット食塩寒天培地上には白色のコロニーも少数認められる。

るいは藤色)のコロニーが形成され、その他の菌は増殖できないか、あるいは増殖した場合には他の色のコロニーが形成される¹⁶⁾。実際に検者が培養物を確認したところ、赤紫色、あるいは藤色と思われるコロニーが形成されていた場合もあったが、桃色や濃紫色に近い色調のものが形成されている場合もあった。その他、薄青色、薄緑色等の色調のコロニーの形成も観察された。1人の被験者から複数の色調のコロニーが検出されることは無かった。明白な「赤紫色」のコロニーの判定が当初想像していたよりも容易でなかったため、本研究では明らかに異なる色調のものは除外し、検者が赤色～紫色と判断し、グラム染色でグラム陽性球菌が観察されたコロニーを「*mecA* 陽性ブドウ球菌の可能性有り」と判定した。結果として、16名の被験者で陽性となった(表1)。特に被験者14では *mecA* 陽性ブドウ球菌と思われるコロニーが多数(100以上)形成されていた。図1には被験者14のクロムアガー MRSA II培地上ならびにマンニット食塩培地上に形成されたコロニーの写真を示す。クロムアガー MRSA II培地上では赤～紫の色調のコロニーが多数形成されており、マンニット食塩培地上では培地の黄変を伴う多数の黄色コロニー中に白色のコロニーも混在していた(図1)。これら16名の被験者についてマンニット食塩培地の状況を確認したところ、培地の黄変を伴う黄色のコロニーが多数形成されているものもあったが、培地の変色を伴わず白色コロニーのみが多数形成されている場合の方が多かった(表1)。

2. *mecA* 陽性ブドウ球菌の可能性有り と判定された菌株からの *mecA* の検出結果

上記16名の各被験者から分離された *mecA* 陽性ブドウ球菌の可能性有り と判定された16菌株についてPCR法による *mecA* の検出を行った。その結果、被験者3, 8, 10, 15由来の4菌株を除く12菌株で *mecA* 陽性であった(図2, 表1)。

3. *mecA* 陽性ブドウ球菌と判定された菌株の薬剤感受性試験の結果

mecA 陽性ブドウ球菌の可能性有り と判定され、*mecA* 陽性であった一部の菌株について薬剤ディスクを用いた感受性試験を行った。図3には被験者14由来の菌株による薬剤感受性試験の結果を示す。ストレプトマイシンに対しては感受性(阻止円の直径15.5 mm)を示しているが、ベンジルペニシリン(ペニシリンG)には耐性(阻止円なし)を示している(図3)。

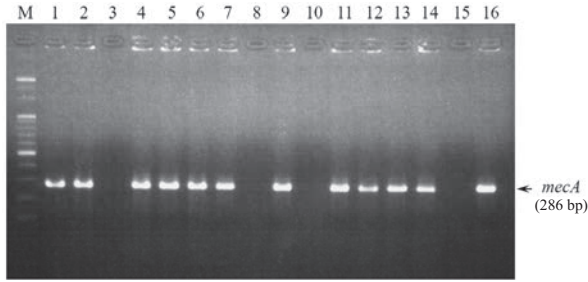


図2. PCRによる *mecA* 遺伝子の検出
 クロムアガー MRSA II 培地で赤～紫色のコロニーが形成された16名の各被験者から得られた16菌株についてPCRによる *mecA* 遺伝子の検出を行った。2%アガロースゲル電気泳動像を示す。12菌株で *mecA* の存在が確認された。
 M: 100 bp DNA ラダーマーカー。

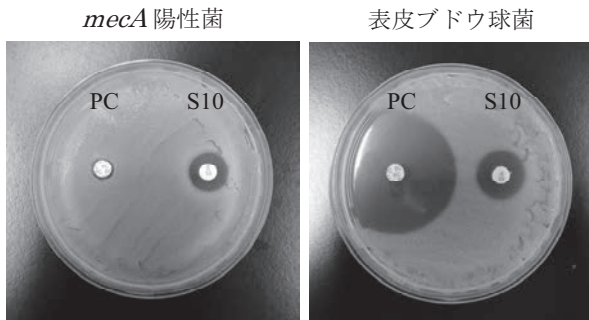


図3. ディスク法による薬剤感受性試験の一例
 クロムアガー MRSA II 培地で培養された *mecA* 陽性ブドウ球菌と考えられる菌株（被験者14由来）についてディスク法によるベンジルペニシリン（PC）感受性試験とストレプトマイシン（S10）感受性試験を実施した結果を左に示す。また表皮ブドウ球菌の標準株（*S. epidermidis* ATCC 700576）で同様に実施した試験結果を右に示す。

4. 結果のまとめ

クロムアガー MRSA II 培地で陽性となった16名の被験者うち、12名（8.6%）から *mecA* 陽性菌が検出された。このうちマンニット食塩培地で黄色ブドウ球菌がみられたのは4名（2.9%；表1，被験者2，6，12，14）であり、他の8名（5.7%；表1，被験者1，4，5，7，9，11，13，16）では黄色ブドウ球菌はみられなかった。

考察

本研究では、本学学生140名を対象として鼻腔から検体を採取し、選択分離培地であるクロムアガー MRSA II 培地を用いて *mecA* 陽性ブドウ球菌の検出を試み、分布状況を調査した。結果として、12名（8.6%）から *mecA* 陽性ブドウ球菌が検出された。このうちマンニット食塩培地で黄色ブドウ球菌がみられたのは

4名（2.9%）であり、他の8名（5.7%）では黄色ブドウ球菌はみられなかった。クロムアガー MRSA II 培地では MRSA の他、表皮ブドウ球菌を含む他のブドウ球菌で陽性となるため¹⁶⁾、8名から検出されたブドウ球菌は SCC*mec* を有するメチシリン耐性表皮ブドウ球菌（MRSE）である可能性が高いと考えられる。中畑らの報告¹⁵⁾ では、19歳から39歳までの大学生146人について調査を行ったところ、2名（1.4%）から MRSA、また19名（13.0%）から MRSE が検出されている。この報告では各被験者からマンニット食塩培地を用いて採取された162菌株のブドウ球菌（1人あたり約1.2株）について調査を行っており、本研究で用いられた方法とは異なっている。このため、単純に結果を比較することはできないものの、総合的に考えると、青年期での MRSA や MRSE を含む *mecA* 陽性ブドウ球菌の分布を考えた場合、1割程度の人口で分布があると考えるのが妥当かもしれない。今後も引き続き調査を行い、SCC*mec* の型などを含めてより詳細な調査を行うことを課題としたい。

本研究では、鼻腔検体をクロムアガー MRSA II 培地に塗布し、赤～紫色を呈するコロニーが得られた場合に陽性と判定した。クロムアガー MRSA II 培地は、特別に配合された発色基質混合物とセフェム系第2世代セファロスポリン系抗菌薬であるセフォキシチンを含む MRSA の選択分離培地である。発色基質混合物は菌が産生する酵素により分解されて発色し、またグラム陰性菌や酵母様真菌、他のグラム陽性球菌の発育を抑制するため、MRSA 以外の細菌が発育した場合はコロニーが赤紫色以外の色を呈し、赤紫色を呈する MRSA との区別が可能とされる。しかし、多くの選択分離培地について共通の背景ではあるが、選択分離培地で分離される細菌種には目的菌以外の菌も培養される場合がある。本培地も例外でなく、黄色ブドウ球菌以外のブドウ球菌（表皮ブドウ球菌や *S. simulans* など）でも陽性となり、あるいは *Chryseobacterium meningosepticum*、*Corynebacterium jeikeium* などの細菌種で偽陽性の結果となる可能性もあるとされている¹⁶⁾。実際本研究の結果でも、クロムアガー MRSA II 培地で陽性であっても *mecA* 非検出のコロニーが検出された（表1，被験者3，8，10，15）。また MRSA であっても増殖が抑制されてしまい検出されない可能性も考えられる¹⁶⁾。一方、本培地の MRSA（あるいはセフォキシチン耐性ブドウ球菌）の検出精度（陽性）は90%程度、非検出の精度（陰性）は98%程度であること¹⁶⁾、またグラム染色、PCR法による *mecA* 検出、薬剤耐性試験の結果を組み合わせ考慮していることから判断すると、本研究の方法論や得られた結果につ

いてはある程度十分な信憑性があると思われる。一方、クロムアガー MRSA II 培地上に形成されたコロニーの中には、「赤紫色」の判定に迷う色調のものもあったため、将来的に使用培地の種類等を含めた方法について見直す余地があるかもしれない。

本研究では結果的に4人の被験者（表1, 被験者2, 6, 12, 14）でMRSAと思われる *mecA* 陽性メチシリン耐性ブドウ球菌が検出された。被験者2, 6, 12ではクロムアガー MRSA II 培地で検出されたβ-ラクタム耐性ブドウ球菌のコロニー数は19以下であるのに対し、被験者14では100以上（実際には300以上）であった。一方、マンニット食塩培地では4人すべてにおいて多数（100以上）の黄色ブドウ球菌のコロニーが見られた。このことから、鼻腔の常在黄色ブドウ球菌のポピュレーションにおいて、被験者2, 6, 12では *mecA* 陽性メチシリン耐性ブドウ球菌はマイナーポピュレーションとして存在するのに対し、被験者14ではメジャーポピュレーションとなっていることが伺われる。本研究ではSCC*mec*の型を特定していないため、被験者2, 6, 12がどのような経緯で *mecA* 陽性メチシリン耐性ブドウ球菌をマイナーポピュレーションとして獲得したのか、あるいは被験者14がどのような経緯でメジャーポピュレーションとして獲得したのか不明である。しかし、推察される可能性として高いと思われるのは、被験者2, 6, 12はおそらく市中感染によりCA-MRSAを獲得し、既存の常在黄色ブドウ球菌に混じって定着していることである。一方、被験者14は出生後の早い段階で、おそらくは院内感染あるいは母子感染によりHA-MRSAを常在菌として獲得したか、あるいはCA-MRSAを獲得後に抗菌薬の長期使用を行っていた可能性もある。いずれにせよ、菌株の特定や少なくともCA-MRSAに多いSCC*mec*の型（主にIV型）かHA-MRSAに多いSCC*mec*の型（主にII型）¹²⁾かを特定することは、このような考察を行う上で重要となってくるため、今後の研究の課題としていきたい。

本研究では匿名で調査を行っており、*mecA* 陽性ブドウ球菌の検出結果は被験者に知らせていないが、通常の常在ブドウ球菌と比べ、病原性が特段強いわけではないと思われるため¹⁾、通常の免疫力を有している青年期の健康人であれば無害であり、除菌が必要な状況には陥らないと思われる。また *mecA* 陽性ブドウ球菌をマイナーポピュレーションとして保菌すると思われる被験者では、対象抗菌薬を長期にわたり使用していなければこれらが優位となって通常のブドウ球菌を凌ぐような状況にはなりにくいと考えられ、特段の対策を講じる必要はないと思われる。一方、易感染性

の状態では抗菌的薬学療法を行う場合には、MRSAやMRSEは種々の抗菌薬に抵抗して治療を難しくする可能性は十分に考えられる。特に、骨折後の骨髄炎、開腹・開胸手術後の術後感染などで治療困難な状況に陥る場合もあり得る¹⁾。*mecA* 陽性ブドウ球菌が検出された被験者のうち、特にメジャーポピュレーションとして保菌すると思われる者では上記のような状況に陥らないとは限らないため、調査段階でこのような者が特定された場合には本人に知らせて自覚させることも必要なかもしれない。また院内感染を含む特定集団の感染では、初期の感染源となって感染拡大をもたらす者の存在がその後の経過を決定する上で重要であり、上記被験者がこのような存在にならないとは言いきれない。将来的に倫理的側面も考慮しながら本人への通知を検討する必要がある。

常在 *mecA* 陽性ブドウ球菌は通常は健康人には影響しにくいとはいえ、ヒトからヒト、あるいはヒトから動物へと不顕性感染を介して伝播し、易感染性宿主に重篤な感染症を引き起こす可能性があるため、伝播させないに越したことはない。また *mecA* 陽性ブドウ球菌を保菌する健康者が将来的にこれに影響されないとはいえない。HA-MRSAは院内感染起因菌として対策されてきたため患者からの分離率は減少する傾向にあるが²⁾、本邦はMRSA汚染大国とも言われており³⁾、今後もモニタリングすべき病原体であることに変わりはない。またCA-MRSAやMRSEの市中感染は増加傾向であると言われており^{6,15)}、調査手段を充実させながら特定集団に対して定期的調査を実施することは重要と思われる。市中感染のメカニズム解明も急がれており、地道な調査が必要になるとと思われる。病院施設以外での調査報告は少ないため、今後も *mecA* 陽性ブドウ球菌の動向について積極的姿勢で調査していくべきと思われる。

結論

本研究では、本学学生140人から *mecA* 陽性ブドウ球菌検出を行い、青年期における分布状況の推測を行った。結果として140人中12人（8.6%）から *mecA* 陽性ブドウ球菌が検出された。この中にはMRSAを鼻腔常在ブドウ球菌のメジャーポピュレーション、あるいはマイナーポピュレーションとして保菌している可能性のある者が含まれていた。過去の調査を加味して考慮すると、青年期人口における *mecA* 陽性ブドウ球菌の分布は1割程度であると考えられる。CA-MRSAやMRSEの市中感染は増加していると言われており、感染拡大を防止するために *mecA* 陽性ブドウ球菌の動態調査を積極的に行うことが重要であると思

われる。今後、本研究で実施された方法等をさらに充実させながら、定期的に調査を行っていく必要があると思われる。

謝辞

本研究にご協力いただきました本学学生の皆様に厚く御礼申し上げます。

利益相反 (COI)

本論文に関して、開示すべき利益相反状態はない。

文献

- 1) 国立感染症研究所 感染症情報センター：感染症の話 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症. http://idsc.nih.gov/idwr/kansen/k02_g1/k02_18.html (2017年2月10日閲覧)
- 2) 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業：検査部門 JANIS (一般向け) 期報・年報, 2015年報. [http://www.nih-janis.jp/report/open_report/2015/3/1/ken_Open_Report_201500\(clsi2012\).pdf](http://www.nih-janis.jp/report/open_report/2015/3/1/ken_Open_Report_201500(clsi2012).pdf)(2017年2月10日閲覧)
- 3) Khokholova Olga, Wei Chun Hung, Lee Jene Teng, 樋口渉, Razvina Olga, 高野智洋, 山本達男. アジアとロシアに分布するメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 Hungarian clone の multiplex PCR による迅速検出. 新潟医学会雑誌. 2010 ; 124 : 167-170.
- 4) 朝日新聞デジタル 記事 (2016年6月25日) : MRSA 感染で死亡1.4万人増 医療費も増加と推計. <http://www.asahi.com/articles/ASJ6K42NGJ6KULBJ003.html> (2017年2月10日閲覧)
- 5) Eady EA, Cove JH. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*-an emerging problem for the management of skin and soft tissue infections. *Curr Opin Infect Dis*. 2003 ; 16 : 103-124.
- 6) 山本達男. 【グローバル化する感染症の最新情報】細菌感染症 MRSA 感染症. 臨牀と研究. 2013 ; 90 : 1691-1696.
- 7) Suzuki E, Hiramatsu K, Yokota T. Survey of methicillin-resistant clinical strains of coagulase-negative staphylococci for *mecA* gene distribution. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992 ; 36 : 429-434.
- 8) Hartman BJ, Tomasz A. Low-affinity penicillin-binding protein associated with β -lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*. 1984 ; 158 : 513-516.
- 9) Utsui Y, Yokota T. Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin- and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1985 ; 28 : 397-403.
- 10) Matsuhashi M, Song MD, Ishino F, Wachi M, Doi M, Inoue M, Ubukata K, Yamashita N, Konno M. Molecular cloning of the gene of a penicillin-binding protein supposed to cause high resistance to β -lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*. 1986 ; 167 : 975-980.
- 11) Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 ; 44 : 1549-1555.
- 12) Hiramatsu K, Ito T, Tsubakishita S, Sasaki T, Takeuchi F, Morimoto Y, Katayama Y, Matsuo M, Kuwahara-Arai K, Hishinuma T, Baba T. Genomic basis for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Infect Chemother*. 2013 ; 45 : 117-136.
- 13) Tsubakishita S, Kuwahara-Arai K, Sasaki T, Hiramatsu K. Origin and molecular evolution of the determinant of methicillin resistance in staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 ; 54 : 4352-4359.
- 14) 佐野剛. 本学における MRSA 感染症の現状 呼吸器内科における MRSA 感染症の現状. 東邦医学会雑誌. 2012 ; 59 : 320-322.
- 15) 中畑千夏子, 奥山茜, 原田知恵, 下沢英里子, 村瀬麻亜沙, 鍵谷ゆうこ, 羽毛田真衣, 丸山理沙, 坂田憲昭. 大学生におけるメチシリン耐性ブドウ球菌の分布とその特徴. 長野県看護大学紀要. 2015 ; 17 : 51-61.
- 16) BBL™ CHROMagar™ MRSA II. [http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/L010089\(01\)\(201009\).pdf](http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/L010089(01)(201009).pdf) (2017年2月10日閲覧)
- 17) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル (H28.12月改訂版 Ver1.1). <http://www.nih.gov/niid/images/lab-manual/ResistantBacteria201612V1.1.pdf> (2017年2月10日閲覧)
- 18) Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antimicrobial susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966 ; 45 : 493-496.

