

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20580340

研究課題名(和文) 動物・ヒト間の多剤耐性ブドウ球菌相互感染と耐性因子伝達様式

研究課題名(英文) Transmission of multi-antimicrobial resistant *Staphylococcus* spp. and the resistant factors between animals and humans.

研究代表者

中馬 猛久 (CHUMA TAKEHISA)

鹿児島大学・農学部・准教授

研究者番号：90201631

研究成果の概要(和文)：

動物由来ブドウ球菌属 120 株の *mecA* 保有状況、薬剤耐性状況、遺伝子レベルでの調査を行った結果、*S. aureus* が 21 株、*S. pseudintermedius* が 67 株、CNS (Coagulase Negative *Staphylococcus*) が 32 株であった。SCC*mec* 型別では、*S. aureus* は 6 株および 5 株が人の流行型である II 型、IV 型を示した。この型は共に、*S. pseudintermedius* は 17 株が III 型、10 株が V 型であり、*S. aureus* と異なる流行を示した。*S. aureus* は人の流行型である SCC*mec* 型 II、IV 型に型別され、PFGE 型も多様性を示したことから人と動物の間での伝播の可能性が示唆された。*S. pseudintermedius* は III、V 型に型別されたことから、*S. pseudintermedius* における薬剤耐性は動物内で獲得され、動物間で伝播する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：

*mecA* was detected in 55% (11/20) of *S. aureus*, 40% (27/67) of SIG and 9% (3/32) of coagulase-negative staphylococci (CNS). Sequencing of *mecA*-positive SIG identified all isolates as *S. pseudintermedius*. *mecA*-positive MRSA were classified into SCC*mec* type II ( $n = 6$ ) and IV ( $n = 5$ ); MRSP were categorized into SCC*mec* type III ( $n = 17$ ) and V ( $n = 9$ ). One MRSP and 3 *S. sciuri* isolates harboured untypable SCC*mec* elements. Diversities of the DNA fingerprints were exhibited by the majority of MRSP and all MRSA isolates.

In conclusion, Detection of SCC*mec* types II and IV in dogs and cats indicated a likely spread of MRSA from humans to pet animals. Occurrence of SCC*mec* type III and V elements only in veterinary medicine indicated a different mode of transmission of these mobile resistance elements that was entirely confined within animal cycles. Diverse PFGE profiles may signify a potentially widespread horizontal transmission of similar SCC*mec* elements amongst clonally unrelated staphylococci.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度			
2007年度			
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野： 農学

科研費の分科・細目： 畜産学・獣医学 応用獣医学

キーワード： 人獣共通感染症 多剤耐性 ブドウ球菌

## 1. 研究開始当初の背景

ブドウ球菌は、動物やヒトに常在しているが、創傷から侵入することで化膿性疾患などを引き起こす。また、免疫力の低下した患者または動物では肺炎、骨髄炎、敗血症といった重篤な症状を呈することもあり、重要な人獣共通感染症である。なかでもメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*: MRSA) はヒトの院内感染起因菌として報告されて以来、世界中に広がりを見せ我が国でも1980年代に報告されるようになった。MRSA出現の背景には医療現場での抗菌剤の乱用が指摘されており、現在では多剤耐性を示すMRSAがその主流となっている。これまでヒトの医療現場においてさまざまなMRSA対策がとられているにもかかわらず、なお院内感染は多発し死亡事故さえ起きていた。

MRSAの薬剤耐性遺伝子はバクテリオファージやプラスミドのみならずゲノム上の転移性遺伝子 *mecA* で伝達され、カセット遺伝子としてゲノムに組み込まれたり、切り出されたりすることがわかっている。*mecA* 遺

伝子は、他のブドウ球菌 (比較的病原性が弱いとされている *S. epidermidis*、*S. haemolyticus* など) からみつかっているがその由来は解明されていなかった。

一方、近年、動物医療にも高度医療 (各種化学療法など) が導入されたことにより、動物からもMRSAが検出されるようになり、動物病院での院内感染も危惧され、病患畜のみならず健康な動物とヒトとの接触による相互感染の可能性も考えられるようになってきた。逆に、ヒトから動物へのMRSAの拡大までも懸念されている。

我々は本研究開始までに本学での新興感染症対策研究プロジェクトにおける薬剤耐性病原菌の研究を実施中、イヌ、ネコにおけるMRSAの分布状況を調査して伴侶動物にも *mecA* を保有する多剤耐性 *S. aureus* が存在することを明らかにした。その後、イヌに特有なブドウ球菌として新たに分類されてきた *S. intermedius* にも多剤耐性および *mecA* 遺伝子の存在を見いだした。しかしながら、MRSAの伝播経路、ヒトと動物の相互感染の可能性、耐性遺伝子カセット *mecA* のブドウ球菌間での伝達経路やメカニズムな

どはほとんどわかっていなかった。

## 2. 研究の目的

- (1) 伴侶動物における多剤耐性ブドウ球菌の蔓延状況および分子生物学的特徴を明らかにする。
- (2) 動物からの分離株の薬剤耐性因子の遺伝子型を調べ、ヒト由来株の遺伝子型と比較することにより、ヒト・動物間の相互感染の可能性とその経路を明らかにする。
- (3) ヒトと動物にそれぞれ特異的な異種の菌の間での耐性因子の構造を比較することで耐性因子の耐性遺伝子の本来の起源を調べる。

## 3. 研究の方法

- (1) 菌株の収集： 鹿児島大学農学部附属動物病院に来院するイヌ、ネコ、その他の患者を対象として細菌検査を実施し、ブドウ球菌を収集した。
- (2) 菌種の同定： 収集した菌を用い、ヒトと動物に共通してみられる *S. aureus*、イヌによくみられる *S. intermedius*、環境からよく分離され病原性の弱い Coagulase Negative *Staphylococcus* (CNS) 群の同定を、生化学的性状検査および PCR によって実施した。
- (3) 薬剤感受性試験： ヒト・動物の臨床上重要な抗菌剤に対する感受性試験を寒天平板法により実施し、多剤耐性ブドウ球菌の浸潤状況を調べた。
- (4) 薬剤耐性因子の検索： ブドウ球菌の多剤耐性に関与する *mecA* 遺伝子を PCR 法を用いて検索した。
- (5) 菌株の遺伝子型および薬剤耐性遺伝子の型別： パルスフィールドゲル電気泳動法を用いて細菌ゲノム遺伝子の型別を実施し、さらに各分離株の Staphylococcal

Chromosomal cassette (SCC) *mec* 遺伝子を標的としてマルチプレックス PCR により型別を行い、院内感染型、市中感染型などの特徴を分析した。

- (6) ヒト分離株との比較： 動物由来ブドウ球菌 *S. aureus*、*S. pseudintermedius* や病原性の弱い CNS から検出された薬剤耐性因子およびそれらの型をヒト由来株と比較検討し、動物・ヒト間での病原菌の共有性、伝播経路、さらに種の間での耐性遺伝子の共有性を調べた。

## 4. 研究成果

2002～2009 年に本学及び鹿児島市内開業動物病院に来院したイヌ・ネコから分離されブドウ球菌と同定された 120 株のうち *S. aureus* が 21 株、*S. pseudintermedius* が 67 株、CNS (Coagulase Negative *Staphylococcus*) が 32 株であり、そのうち *mecA* 遺伝子を保有する株は、*S. aureus* で 11 株 (52%)、*S. pseudintermedius* で 27 株 (42%)、CNS で 3 株 (9%) だった。

*mecA* 保有 *S. aureus* のゲンタマイシン、クロラムフェニコールに対する耐性率 (それぞれ 45%、9%) と比較して、*S. pseudintermedius* の耐性率 (それぞれ 100%、74%) と有意に異なった。

パルスフィールドゲル電気泳動法により、*S. aureus* では 7 つの型に、*S. pseudintermedius* は 12 個の型に分類され、5 つのクローナルな群が認められた。

SCC*mec* 型別では、*S. aureus* は 6 株が II 型、5 株が IV 型であった。この型は共に人での流行型である。*S. pseudintermedius* は 17 株が III 型、10 株が V 型であり、*S. aureus* と異なる流行を示した。

*S. aureus* は人の流行型である II、IV 型に型別され、PFGE 型も多様性を示したことから人

と動物の間での伝播の可能性が示唆された。

*S. pseudintermedius* はⅢ,Ⅴ型に型別され、薬剤耐性状況や PFGE 解析を含めると、*S. pseudintermedius* における薬剤耐性は動物内で獲得され、さらに動物間での伝播の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 1 件)

ペットから人へ、身近で起こる人獣共通感染症～昨今の現状と予防対策 感染経路と症状、予防対策まで 2 細菌感染症

中馬猛久

日本防菌防黴学会誌 36: 193-200 (2008)

査読無し

[学会発表] (計 2 件)

#### 1、伴侶動物由来 *mecA* 保有ブドウ球菌の遺伝子型別と薬剤耐性

○坂口功・中馬猛久・岡本嘉六

平成 21 年度日本獣医師会 学会年次大会

2010 年 1 月 30 日

宮崎市 ワールドコンベンションセンター

#### 2、伴侶動物由来 *mecA* 保有ブドウ球菌の SCC*mec* 型別と薬剤耐性状況

○坂口功、中馬猛久、岡本嘉六

第 58 回日本獣医公衆衛生学会 (九州)

2009 年 10 月 18 日

福岡市 福岡国際会議場

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

中馬 猛久 (TYUMA TAKEHISA)

鹿児島大学・農学部・准教授

研究者番号：90201631

##### (2) 研究分担者

岡本 嘉六 (OKAMOTO KAROKU)

鹿児島大学・農学部・教授

研究者番号：00136847

西 順一郎 (NISHI JUNICHIRO)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・講師

研究者番号：40295241