

博士学位論文

学位論文内容の要旨および審査結果の要旨

氏名 馬場 光太郎

学位の種類 博士（獣医学）

学位授与の条件 酪農学園大学学位規程第3条第4項に該当

学位論文の題目 **Epidemiological Studies on Methicillin-Resistant
Staphylococcus aureus from Swine in Japan**
(わが国の豚由来メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の疫学的研究)

審査委員

主査	教授	田村	豊	(食品衛生学)
副査	教授	横田	博	(獣医生化学)
副査	教授	菊池	直哉	(獣医細菌学)
副査	准教授	樋口	豪紀	(獣医衛生学)
副査	教授	浅井	鉄夫	(岐阜大学大学院)

学位論文要旨

畜産現場では病畜の治療と疾病予防のために抗菌剤の使用は必須である。しかし抗菌剤使用は薬剤耐性菌を選択し蔓延させる要因であることが知られている。日本では養豚業での抗菌剤使用総量は他の家畜に比較して最大である。養豚業での抗菌剤の過剰使用はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) など、新たな薬剤耐性菌が豚群内で発生する可能性が危惧されている。

家畜関連 MRSA (Livestock-associated MRSA: LA-MRSA) ST398 は 2004 年オランダにおいて養豚業従業者の家族である 4 才の少女から始めて分離された。LA-MRSA は 2005 年頃から世界中に拡散し始め人にも伝播し、公衆衛生上深刻な問題の一つとなっている。そこで本研究は日本の豚での LA-MRSA の出現状況を明らかにし、その人への拡散を阻止する対策を構築する基礎資料を作成することを目的とした。

第一章で豚から分離された黄色ブドウ球菌における薬剤耐性の分布状況をまとめ、鶏と牛由来株における薬剤耐性状況と比較した。抗菌剤の使用は薬剤耐性菌を選択し、黄色ブドウ球菌の耐性率と抗菌剤の使用量は統計学的に相関関係が認められた。豚由来黄色ブドウ球菌におけるペニシリン G(PC)耐性率の割合は牛と鶏由来株より有意に高く、オキシテトラサイクリン (OTC)、エリスロマイシン (EM)、及びエンロフロキサシン (ERFX) に対する耐性率も牛由来株より有意に高かった。豚由来株の約半数は OTC 耐性を示し、ERFX、EM、アミノグリコシド系抗菌剤耐性との組み合わせ、またはこれらと他の抗菌剤との組み合わせで多剤耐性を示した。日本では、抗菌剤使用量は鶏や牛と比較すると豚で最も多く、この抗菌剤使用量が豚由来株で耐性率が高い要因ではないかと推測された。

第二章では、LA-MRSA がヨーロッパを中心に主に豚の間で拡散しているため日本における豚で MRSA の分布状況を調査した。その結果、2009 年の MRSA 分離率は 0.9%(1/115、95%信頼区間は 0.0%-4.8%)であり、ヨーロッパや北米より低値であった。本章で分離された MRSA の MLST 型は ST221 と同定された。ST221 は Clonal Complex5 に属し、*spa* 型は t002 だった。この研究は日本の豚農場において MRSA の分布の程度は低く、世界的に流行している LA-MRSA ST398 の発生はないことを明らかにした。

最終章では LA-MRSA ST398 の日本での出現の可能性について検討した。日本の豚から分離されたメチシリン感受性黄色ブドウ球菌の 40%(6/15)が ST398, *spa* 型 t034 と型別された。MRSA ST398 t034 はヨーロッパと北米で主に分布している LA-MRSA と同じ遺伝子型である。またメチシリン耐性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌の SCC *mec* 型は IV もしくは V だった。したがってブドウ球菌間の *mecA* 遺伝子の水平伝播を考慮すると、新たな LA-MRSA が日本の畜産現場で出現する可能性はありと考えられた。

本研究では日本の豚生産現場での MRSA の分布の程度は低いですが、LA-MRSA の侵入する可能性はあるものと推測された。また、豚由来黄色ブドウ球菌は豚で用いられる主要な抗菌剤に耐性であり、多剤耐性であることを示した。大規模集約生産システムは養豚において生産コストを下げるために用いられるものの、病気はより早く伝播し、疾病率、致死率と動物用医薬品の使用の増加を促すものである。したがって、日本でも LA-MRSA に対する国家レベルでの継続した調査を実施する必要がある。

論文審査の要旨および結果

博士論文の審査に当たって、

- 1) 本論文内容は明確で十分な根拠のあるものか
 - 2) 本論文は科学及び獣医学の発展に寄与するものであるか
- 以上の2点について審査した。

1) 本論文の主張する概要とその根拠について

家畜由来メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (LA-MRSA) ST398は、2005年頃から世界中の家畜に拡散し始め人にも伝播し、公衆衛生上、深刻な問題の一つとなっている。そこで本研究では、わが国において LA-MRSAの豚生産現場での出現の有無と可能性を評価することを目的とした。

まず病畜から分離された黄色ブドウ球菌を用い (豚、牛および鶏)、寒天平板希釈法で各種薬剤に対する薬剤感受性試験を実施した。豚由来黄色ブドウ球菌のペニシリンGに対する耐性率は牛と鶏由来株より有意に高く、オキシテトラサイクリン (OTC)、エリスロマイシン、エンロフロキサシンに対する耐性率も牛由来株よりも有意に高かった。中でも約半数の豚由来株がOTC耐性を示した。さらに豚由来株はフルオロキノロン系、アミノグリコシド系、マクロライド系、テトラサイクリン系との組み合わせで多剤耐性を示した。

次に食肉衛生検査所から得た豚の鼻腔スワブを増菌後、MRSA選択培地に塗抹培養してMRSAを分離した。わが国の養豚場での2009年のMRSAの分離率は0.9% (1/115, 95%信頼区間は0.0%-4.8%)であり、ヨーロッパや北米より著しく低かった。分離されたMRSAのMLST型はST221と同定された。分離株はClonal Complex 5に属し、*spa*タイプはt002だった。このことから例数は限られた調査であるものの、わが国の養豚場においてMRSAの分布は低く、欧米で分離されるものと同じ遺伝子型のLA-MRSAは確認されなかった。

最後にLA-MRSAのわが国での出現の可能性について評価した。わが国で分離されたメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) の40% (6/15)でMLST型はST398、*spa*タイプはt034と型別された。MRSA ST398、t034は欧米で主に分布しているLA-MRSAの遺伝子型である。ブドウ球菌間の *mecA*遺伝子の水平伝播を考慮すると、LA-MRSAの動物生産現場での出現は十分にあり得ると結論づけられた。

本調査結果は、わが国のLA-MRSAの出現状況と将来的な出現の可能性を供試株の各種遺伝子型の分析から明確な根拠に基づいて示したものと判断した。

2) 本論文の科学及び獣医学的意義について

本研究は最近、ヨーロッパや北米で分離頻度が高まっており、人からの分離報告のあるLA-MRSAのわが国の出現状況を初めて調査したものである。その結果、MRSAを分離したが、遺伝子型は欧米で分離されるLA-MRSAと異なるものであった。一方、わが国で病豚から分離されるMSSAの多くは、欧米で分離されるLA-MRSAと同じ遺伝子型を示した。このことか

ら、現時点でわが国にLA-MRSAを見いだせなかったものの、LA-MRSAの出現の可能性あることを指摘したもので、本論文の科学的及び獣医学的意義は十分にあると判断した。

以上の評価により、本論文は十分に獣医学博士論文としての価値を認めた。

2013年6月19日

審査員

主査	教授	田村	豊
主査	教授	横田	博
副査	教授	菊池	直哉
副査	准教授	樋口	豪紀
副査	教授	浅井	鉄夫