

## [短 報]

分子疫学的解析法により交差感染が否定された *Stenotrophomonas maltophilia* の複数検出菊池健太郎<sup>1)</sup>・芦川鈴子<sup>1)</sup>・乙田舞衣<sup>1)</sup>・田嶋まさ子<sup>1)</sup>・一ノ瀬篤司<sup>1)</sup>・澁谷 勲<sup>1)</sup>虫明寛行<sup>1)</sup>・茂木千代子<sup>1)</sup>・浅田猛大<sup>1)</sup>・高 裕之<sup>2)</sup>・丸茂健治<sup>3)</sup>・吉田 稔<sup>2)</sup><sup>1)</sup>帝京大学医学部附属溝口病院 Infection Control Team<sup>2)</sup>帝京大学医学部附属溝口病院 院内感染対策委員会<sup>3)</sup>昭和大学藤が丘病院臨床病理科・Infection Control Team

(平成23年6月13日受付, 平成23年12月5日受理)

1カ月の短期間に入院患者7例の喀痰から *Stenotrophomonas maltophilia* が検出された。全例が保菌状態で、患者背景はいずれも高齢者、4例は感染症の入院治療経過中に検出された。薬剤感受性パターンが類似したため、交差感染を疑った。Random amplified polymorphic DNA (RAPD) 法と pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 法の結果は、全株(7株)が異なる遺伝子型を示したため、これら患者間の交差感染は否定された。*S. maltophilia* は病原性が極めて低く、感染症例が乏しいものの、メタロ-β-ラクタマーゼを産生する耐性菌であることから、感染制御上、特に抗菌薬適正使用を行う際の指標になりうるということがわかった。

**Key words:** *Stenotrophomonas maltophilia*, random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) method

## 序 文

*Stenotrophomonas maltophilia* は湿潤環境に広く存在する細菌で、病原性は極めて低いが、カルバペネム系抗菌薬に自然耐性であることから、これら抗菌薬投与による菌交代症として検出されることがある<sup>1)</sup>。しかしながら、本菌が日和見病原体として臨床検体からたびたび分離され、血液疾患、肝移植後や人工弁置換術後の患者に敗血症や心内膜炎をきたした報告<sup>2~4)</sup>、院内感染では長期入院歴のある患者や中心静脈カテーテル留置患者に感染の危険性が高くなる報告<sup>5)</sup>がある。

今回、1カ月間で入院患者7名の喀痰から *S. maltophilia* が検出されたが、Random amplified polymorphic DNA (RAPD) 法と Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 法による分子疫学的解析により、交差感染が否定された事例を経験したので報告する。

## 材料と方法

## 1. 材料

*S. maltophilia* 7株は入院患者7例の良質な喀痰から分離された。また、感染が疑われた接触者検診では、病棟A, B, Cの全入院患者を対象とした。*S. maltophilia* 新規検出数の調査は、過去2年間にさかのぼって行った。また、病棟A, B, Cの環境調査は各手洗い所とナースステーション流し場の蛇口およびシンクなどで行った。分子疫学的解析では、先の *S. maltophilia* 7株および対照株として交差感染が明らかに否定された他施設からの *S. maltophilia* 1株を使用した。

## 2. 方法

## a. 菌種の同定と薬剤感受性試験

菌種同定は、マイクロスキャン WalkAway 40Si (SIEMENS) でパネル Neg Combo 6.12J を用いて行った。薬剤感受性試験成績は Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 法に準拠したカテゴリー判定で得た (S, 感受性; I, 中間; R, 耐性)。*S. maltophilia* の月間および年間検出数は、新規検出患者の合計数で表した。

## b. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) 法

DNA抽出は、トリプトソイ寒天培地で培養した菌液を McFarland No. 2 に調製した後、Takahashi らの方

著者連絡先: (〒213-8507) 川崎市高津区溝口3-8-3  
帝京大学医学部附属溝口病院第四内科  
菊池健太郎  
TEL: 044-844-3333  
FAX: 044-844-3546  
E-mail: kentaro@med.teikyo-u.ac.jp

法<sup>6)</sup>により行った。RAPD法はERIC-2 primer (5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3')を用い、PCR反応条件はannealing 44°Cにした以外は、常法に従って行った<sup>7)</sup>。増幅産物は2.5% SeaKem Gel Agarose (Lonza)を用いて電気泳動を行い、ethidium bromide染色後、写真撮影を行った。

### c. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 法

菌体からのDNAはBIO-RAD社ジーンパス グループ6試薬キットで抽出し、制限酵素XbaIで処理した。PFGEは1% SeaKem Gold Agarose gel (lonza)を用い、泳動条件はパルスタイム step-1: 1~14.3 s (4.6 h), step-2: 14.3~20.4 s (7.2 h), step-3: 20.4~23 s (6.7 h), 電圧6 V/cm, 12°Cで行った。泳動後のDNAフラグメントはethidium bromide染色後、写真撮影を行った。タイピングの判定はTenoverらの肉眼判定法の基準に従った<sup>8)</sup>。

### d. カルバペネム系抗菌薬の処方量、手指衛生遵守率

カルバペネム系抗菌薬の処方量は、薬剤部から払い出された年間のグラム数として表した。手指衛生の遵守率は、流し台に液体石鹸が設置されているか、流し台の周囲が清潔にされているか、衛生的な手洗いができているかなどの18項目を含む、当院で規定した手指衛生チェックリストを用いてリンクナースが評価、点数化し、看護師、看護助手、医師において何%できているかを月別集計した。

## 結 果

### 1. *S. maltophilia* の検出経過

2010年9月第2週、病棟A(38床)の別病室の患者2名の喀痰から、同日に*S. maltophilia*が検出された(表1, 症例1, 2)。交差感染を疑い、同病棟の入院制限、接触者検診として同病棟の患者全員の喀痰培養検査、さらに、薬剤感受性試験で多剤耐性であったことから職員の手指衛生徹底を行った。接触者検診では本菌は全く検出されなかった。症例1の患者は*Klebsiella pneumoniae*肺炎で入院し、第1病日の喀痰から*S. maltophilia*は検出されなかったが、cefazopranとvancomycin投与後、imipenem投与中に、MRSAとともに第46病日に検出された。本症例ではinfection control team (ICT)が介入し、主治医とのconsultationで*S. maltophilia*感染症を否定し、保菌状態と判断した。その後、imipenem投与を中止したところ、患者喀痰から本菌は消失した。症例2の患者は慢性腎臓病で入院し、*S. maltophilia*のみが第15病日の検査で検出されたが、発熱などの感染に伴う諸症状を認めなかつ

た。両症例は入院期間が15日間重複していたが、その後の薬剤感受性検査の成績から、それぞれ異なる薬剤感受性パターンであることがわかった。このため、同一株の可能性は低く、交差感染の可能性が低いと判断し、即刻、入院制限を解除した。

病棟Aの患者2名から*S. maltophilia*が検出された10日後、病棟B(41床)と病棟C(43床)の各患者1名の喀痰からも同日に*S. maltophilia*が検出され、これらの薬剤感受性パターンはいずれも症例2のものに一致した(表1, 症例3, 4, ブラケット内)。症例3の患者は*Escherichia coli*尿路感染症の治療中であり、入院第1病日の喀痰から*S. maltophilia*が検出されなかったが、sulbactam/ampicillin投与後、imipenem投与中、第43病日の喀痰から*Candida albicans*とともに保菌状態で検出された。症例4の患者は過去に気管支肺炎の入院歴があり、今回、心臓カテーテル検査のための入院であったが、*S. maltophilia*は第12病日の喀痰からα-*Streptococcus*とともに保菌状態で検出された。これら2症例は症例2との患者間で明らかな接触が認められなかった。このため、医療従事者を介した接触感染を疑い、手指衛生の徹底と同病棟の接触者検診を行い、さらに、環境調査を病棟A, B, Cで行った。接触者検診と環境検査の結果から、*S. maltophilia*は検出されなかった。

さらに、10月第1週には、新たに患者3名から*S. maltophilia*が保菌状態で検出された(表1, 症例5, 6, 7)。症例5と6は、症例1と3と同様に入院第1病日の喀痰から*S. maltophilia*が検出されなかったが、症例5は*E. coli*尿路感染症でmeropenemとlevofloxacin投与後、ceftazidime投与中、第47病日に*Enterococcus faecalis*とともに検出され、また、症例6は*Streptococcus pneumoniae*肺炎でtazobactam/piperacillin投与中に*S. maltophilia*が単独で検出された。症例7は胆石治療目的で入院し、第1病日に*S. maltophilia*が検出されたため、持ち込み菌株と判断した。

### 2. 分子疫学的解析結果

1カ月間で患者7名の患者喀痰からの*S. maltophilia*検出例は、これまで当院で経験しなかったことから、これら菌株同一性をRAPD法とPFGE法で調べた(図1aと1b)。両方法で7株の電気泳動パターンは全く異なり、同一株である可能性は極めて低かった。このことから、症例1から7までの患者間で*S. maltophilia*による交差感染を否定した。

### 3. カルバペネム系抗菌薬の処方量と手指衛生の遵守率

患者7名中にカルバペネム系抗菌薬の投与例が多く

表1. *S. maltophilia* 検出例の背景と薬剤耐性パターン

症例	検出病日	病棟	患者病名 <sup>1</sup>	検体	投薬 (病日)	抗菌薬 <sup>2</sup>												
						IPM	MEPM	CAZ	CZOP	CFPM	AZT	GM	AMK	CPEX	LVFX	FOM	ST	
1	46	A	66M	肺炎	痰	CZOP (1-13), VCM (14-23), IPM (14-23), (33-46)	R	R	R	R	S	R	S	I	S	S	I	S
2	15	A	78M	CKD	痰	—	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
3	43	B	92M	UTI	痰	SBT/ABPC (1-11), IPM (12-20)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
4	12	C	96F	AP	痰	—	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
5	47	D	76F	UTI	痰	MEPM (1-5), LVFX (6-14), CAZ (45-47)	R	R	I	R	I	R	R	R	I	S	R	S
6	8	C	73M	肺炎	痰	TAZ/PIPC (1-8)	R	R	I	R	R	R	R	R	I	S	R	S
7	1	C	79M	胆石	痰	—	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	S

<sup>1</sup>病名略号：CKD, 慢性腎臓病；UTI, 尿路感染症；AP, 狭心症。<sup>2</sup>抗菌薬略号：AMK, amikacin; AZT, aztreonam; CAZ, ceftazidime; CFPM, ceftipime; CPF, ciprofloxacin; CZOP, ceftiozan; FOM, fosfomicin; GM, gentamicin; IPM, imipenem; LVFX, levofloxacin; MEPM, meropenem; SBT/ABPC, sulbactam/ampicillin; ST, sulfamethoxazole-trimethoprim; TAZ/PIPC, tazobactam/piperacillin; VCM, vancomycin. ブラケット内は、同一薬剤感受性パターン。

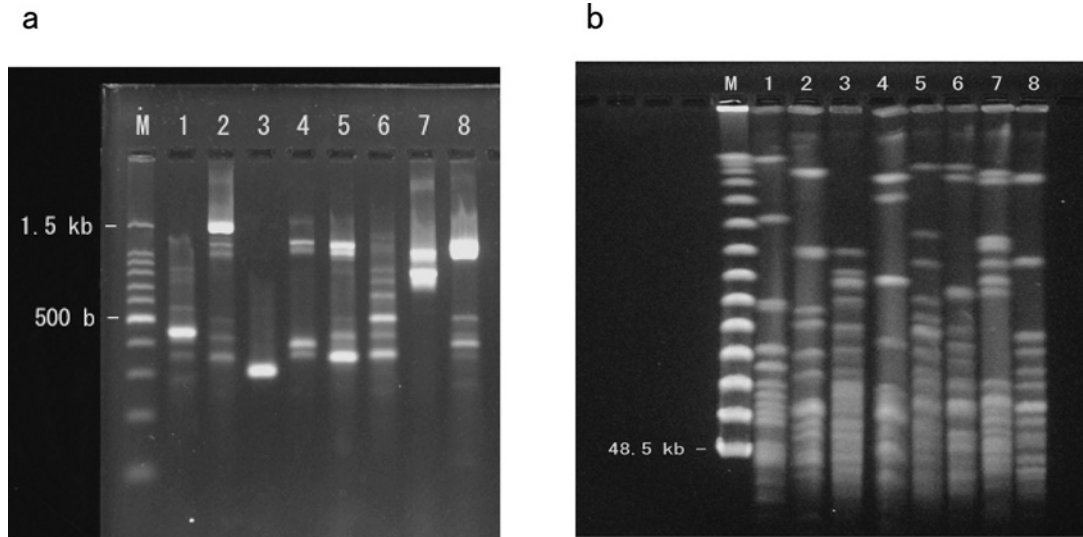


図1a. RAPD法による入院患者7名から採取された *S. maltophilia* 分離株の比較Lanes: M, 100 bp ladder 分子量マーカー；1～7, 7症例の菌株；8, 対照菌株  
 図1b. 制限酵素 *Xba*I を使用した PFGE法による入院患者7名から採取された *S. maltophilia* 分離株の比較。Lanes: M,  $\lambda$ /*Hind*III ladder 分子量マーカー；1～7, 7症例の菌株；8, 対照菌株

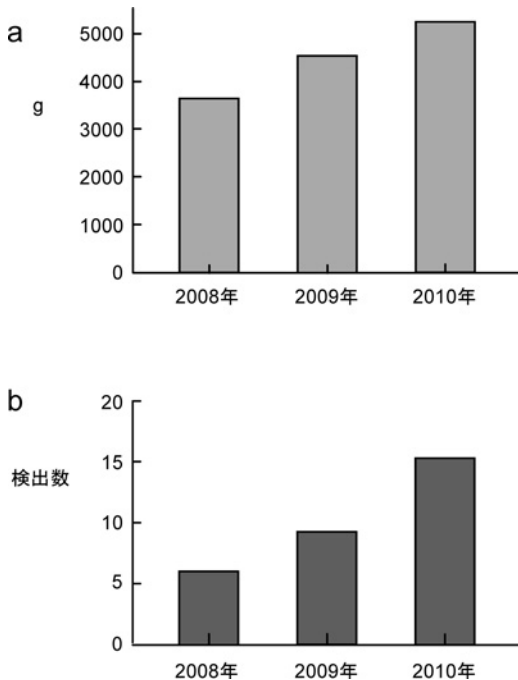


図2a. 薬剤部から払い出されたカルバペネム系抗菌薬処方量の年次推移  
 図2b. *S. maltophilia* 検出数の年次推移  
 当院の喀痰検査における *S. maltophilia* の年別新規検出数を示した。

認められたことから、院内の年次別処方量を調べたところ、カルバペネム系抗菌薬の処方量は2008年に3,602.5gであったが、2009年、2010年にはそれぞれ4,516.5g, 5,154gと増加していた（図2a）。*S. maltophilia*の年間新規検出数も同様に増加し、2008年は6例、2009年は9例であったが、2010年は本事例の7例を含む15例から検出された（図2b）。*S. maltophilia*の院内拡散を抑えるために、接触予防策である手指消毒に重点が置かれた。院内の手指衛生遵守率は、本事例以前から、看護師、看護助手とも90%前後で推移し良好であった。医師については満足すべき遵守率ではなかったが、本事例に基づき職員における手指衛生を再度徹底した結果、52%から75%に著明な上昇が認められた。

考 察

当院において *S. maltophilia* は以前から散発的に検出されていたが、本事例まで同時期に複数検出されたことはなく、1カ月で0～2例の検出であった。2010年9月第2週から10月第1週の1カ月にかけて、患者7名の喀痰から *S. maltophilia* が検出された。さらに、*S. maltophilia* 3株（患者2～4）の薬剤感受性パターンがカテゴリー判定で同一であったことから、患者間の交差感染が疑われた（表1）。RAPD法とPFGE法での解析結果は、両方法で *S. maltophilia* 7株すべてが異なる

遺伝子型であった(図1aおよび1b)。したがって、これら菌株は全て異なることから交差感染が否定され、今回の*S. maltophilia*の事例は偽アウトブレイクと解釈された。

今回検出された*S. maltophilia*は、カルバペネム系抗菌薬を含むβ-ラクタム薬に加えフルオロキノロンやアミノ配糖体などにも耐性を示し、多剤耐性であった。このような*S. maltophilia*が同時期に複数検出され、薬剤感受性パターンが類似した場合、院内感染が疑われる。本事例から、病原性が極めて低い*S. maltophilia*は感染症例に乏しいものの、メタロ-β-ラクタマーゼを産生する耐性菌<sup>9)</sup>であることから、この菌の検出は感染制御上、特に、抗菌薬適正使用を行う際の指標になりうるということがわかった。

*S. maltophilia*が検出された患者はいずれも高齢者で、4例(症例1, 3, 5, 6)は入院当初に検出されず、肺炎や尿路感染症の入院治療経過中に検出され、2例(症例2, 4)は細菌感染や抗菌薬投与がない中で検出され、1例(症例7)は入院当日に検出された。しかしながら症例4は入院1年前に気管支肺炎で入院した際、カルバペネム系抗菌薬が投与されており、いずれの症例も過去に何度か抗菌薬投与がされていたと推察される。*S. maltophilia*検出背景には抗菌薬投与後の選択圧<sup>5)</sup>により、菌交代現象が起こり、この菌の定着に至った可能性が高い。本事例ではカルバペネム系抗菌薬の使用増加が*S. maltophilia*の偽アウトブレイクと直接関連づけられなかったが、抗菌薬適正使用の継続的啓蒙活動は、この菌を含めた耐性菌拡散の抑制につながると確信する。

通常、院外からの持ち込み菌株は入院48時間以内に検出された菌株を考える。本事例では、入院第1病日に喀痰培養検査を行ったのは7症例中5症例(症例1, 3, 5, 6, 7)、うち1例(症例7)から*S. maltophilia*が検出された。この菌を含めた耐性菌の早期発見は院内感染制御を行ううえで不可欠であり、加えて、感染症関連情報に関する地域関連病院との共有化は重要である。今後も、入院時や入院中における重篤な基礎疾患を有する易感染患者への監視培養は、患者病態管理と病院管理の両面から、継続が必要である。

利益相反：なし

謝辞 ご助言を賜りました国立成育医療研究センター教育研修部部長、石黒 精先生に深謝します。

## 文 献

- 1) Senol, E. 2004. *Stenotrophomonas maltophilia*: The significance and role as a nosocomial pathogen. J. Hosp. Infect. 57: 1-7.
- 2) Araoka H., M. Baba, A. Yoneyama. 2010. Risk factors for mortality among patients with *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia in Tokyo, Japan, 1996-2009. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 29: 605-608.
- 3) Harada, N., Y. Soejima, A. Taketomi, et al. 2008. *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia after living donor liver transplantation: Report of a case. Surg. Today 38: 469-472.
- 4) Katayama, T., Y. Tsuruya, S. Ishikawa. 2010. *Stenotrophomonas maltophilia* endocarditis of prosthetic mitral valve. Intern. Med. 49: 1775-1777.
- 5) Looney, W. J. 2005. Role of *Stenotrophomonas maltophilia* in hospital-acquired infection. Br. J. Biomed. Sci. 62: 145-154.
- 6) Takahashi, S., Y. Nagano. 1984. Rapid procedure for isolation of plasmid DNA and application to epidemiological analysis. J. Clin. Microbiol. 20: 608-613.
- 7) López-Molina, N., A. Laconcha, A. Rementeria, et al. 1998. Typing of *Salmonella enteritidis* of different phage types of PCR fingerprinting. J. Appl. Microbiol. 84: 877-882.
- 8) Tenover, F. C., R. D. Arbeit, R. V. Goering, et al. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. J. Clin. Microbiol. 33: 2233-2239.
- 9) Mercuri, P. S., Y. Ishii, L. Ma, et al. 2002. Clonal diversity and metallo-beta-lactamase production in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. Microb. Drug Resist. 8: 193-200.

Pseudo-outbreak of *Stenotrophomonas maltophilia* Determined by Molecular Typing

Kentaro Kikuchi,<sup>1)</sup> Suzuko Ashikawa,<sup>1)</sup> Mai Otuda,<sup>1)</sup> Masako Tajima,<sup>1)</sup> Atsushi Ichinose,<sup>1)</sup>  
Isao Shibuya,<sup>1)</sup> Hiroyuki Mushiake,<sup>1)</sup> Chiyoko Motegi,<sup>1)</sup> Takehiro Asada,<sup>1)</sup>  
Hiroyuki Takashi,<sup>2)</sup> Kenji Marumo,<sup>3)</sup> Minoru Yoshida<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Infection Control Team, Teikyo University Mizonokuchi Hospital

<sup>2)</sup>Infection Control Committee, Teikyo University Mizonokuchi Hospital

<sup>3)</sup>Division of Clinical Pathology, Infection Control Team, Showa University Fujigaoka Hospital

*Stenotrophomonas maltophilia* isolates from seven cases associated with respiratory tract infection or contamination was collected in our hospital for a short-term period of one month. In this study, we investigated whether *S. maltophilia* had been spread among inpatients at the hospital ward. *S. maltophilia* was isolated from the sputum samples of seven inpatients, while the organism was not at all isolated from other inpatient samples or water-borne-environments in the hospital ward. Based on molecular typing by random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique using ERIC-2 primer and by pulsed-field gel electrophoresis, these isolates were identified as different strain types. Therefore, we denied the transmission among inpatients. *S. maltophilia* is often isolated from 65-aged or more inpatient samples during antimicrobial chemotherapy and its increased prevalence is likely to be associated with decreased usage of antiseptics for hand wash. Therefore, the pseudo-outbreak provided a reminder about active surveillance, antimicrobial pressure and hand hygiene.