

[原 著]

Staphylococcus argenteus の検出状況に関する後方視的検討

寺本侑弘¹⁾・原 祐樹¹⁾・山田直輝¹⁾・浅井幸江¹⁾・野村勇介¹⁾・富田ゆうか²⁾

¹⁾ 名古屋第二赤十字病院医療技術部臨床検査科

²⁾ 名古屋第二赤十字病院感染制御部

(令和3年6月17日受付, 令和3年8月16日受理)

Staphylococcus argenteus は *Staphylococcus aureus* に集落や生化学性状が類似しているため, *S. aureus* との誤同定や, Coagulase-negative staphylococci (CNS) と誤認される場合がある。しかし近年, 質量分析法による同定が可能となり, 当院でも検出が可能となった。今回当院で検出された *S. argenteus* に関して検討を行ったので報告する。2019年4月～2020年6月に患者材料から分離された *S. aureus* および *S. argenteus*, 1,101件を対象とし, 解析を行った。*S. aureus* は1,081件 (98.2%), *S. argenteus* は20件 (1.8%) であった。*S. argenteus* が検出された患者に関しては, 男性:9例, 女性:11例, 年齢層は1～96歳 (中央値79歳) であった。検出材料に関しては, 喀痰:11例 (50.0%), 膿:4例 (18.2%), 血液:2例 (9.1%), 創部:2例 (9.1%), その他:3例 (13.6%) であった。薬剤感受性試験を行ったのは16例で, メチシリン感性:15例 (93.75%), 耐性:1例 (6.25%) であった。*S. argenteus* の検出傾向を解析すると, 性別間の差はないが, 高齢者および喀痰や膿からの検出が多く, *S. aureus* と比較するとメチシリン耐性率は低いと考えられた。

Key words: *Staphylococcus aureus* complex, *Staphylococcus argenteus*, 質量分析法

序 文

Staphylococcus argenteus は, 2015年に *Staphylococcus aureus* から細分類された新種である¹⁾。*S. argenteus* は, 皮膚・軟部組織感染症や表在性膿瘍, 菌血症, 食中毒, 人工関節感染症, 骨・関節感染症などの疾患との関連性が報告されており^{2)~6)}, *S. argenteus* 菌血症が methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) 菌血症の死亡率よりも高いとの報告もある⁷⁾。しかし, *S. argenteus* は Coagulase-negative staphylococci (CNS) の一種と誤認されることがあり, 菌種の正しい同定が求められる。*S. argenteus* は staphyloxanthin を産生しないため集落の色が白色であるが, *S. aureus* にも集落の色が白色である株が1割程あり, 必ずしも集落の色が黄色となるとは限らない⁸⁾。*S. argenteus* は *rpoB* 塩基配列を利用した遺伝子学的同定方法や *nuc* 遺伝子のシーケンス解析で識別することは可能であるが, 生化学性状は *S. aureus* に非常に類似しており, 識別することが難しい¹⁾。しかし, 最新のデータベースを利用した質量分析法では比較的容易に同定が可能となった。わが国での症例報告はあるものの, 検出数に関する報告はまだ少ない。そこで今回, 臨床検体から分離された *S. aureus* complex にどの程度の *S. argenteus* の検出があるのか, および検出患者の性別, 年齢, 検出材料,

メチシリン耐性を調査した。

対象および方法

1. 対象

2019年4月から2020年6月の期間に当院微生物検査室に提出されたすべての細菌培養検体を対象とした。そのうち *S. aureus* および *S. argenteus* が検出された患者を対象とし, データベースの解析を行った。なお本研究は名古屋第二赤十字病院の倫理委員会の承認 (承認番号1496) を得て行った。

2. 培養方法

血液培養は BACT/ALERT 3D (シスメックスバイオメリュー) を使用し, 血液培養ボトルは好気用 (FA) Plus 培養ボトルと嫌気用 (FN) Plus 培養ボトル (シスメックスバイオメリュー) を使用した。陽転した血液培養ボトルの内容液を血液寒天培地 (日本 BD) に塗抹し, 35℃ で18時間以上の好気環境下で培養を行った。血液培養以外の臨床材料は, 血液寒天培地に塗布し, 35℃ で18時間以上の好気環境下で培養を行った。

3. 同定方法

血液寒天培地に発育した被検菌株を, MALDI Biotyper (Bruker) を使用して同定を行い, 同定スコアが2.0以上の信頼性の場合のみ結果を採用した。なお当院の細菌同定検査の培地上からの釣菌基準として, 血液培養検体, 胸水等の無菌と考えられる臨床材料からの検出の場合には, 培地上に1コロニーから釣菌を行ったが, 無菌でないと考えられる臨床材料からの検出の場合には, 培地上に10コロニー以上の発育を認めた場合に釣菌を行った。検討に使用したデータベースのバージョンは, 2019年4月から2020年3月まで library

著者連絡先: (〒466-8650) 愛知県名古屋市昭和区妙見町2-9
名古屋第二赤十字病院医療技術部臨床検査科
原 祐樹
TEL: 052-832-1121 (30815)
FAX: 052-832-6097
E-mail: skyward@nagoya2jrc.or.jp

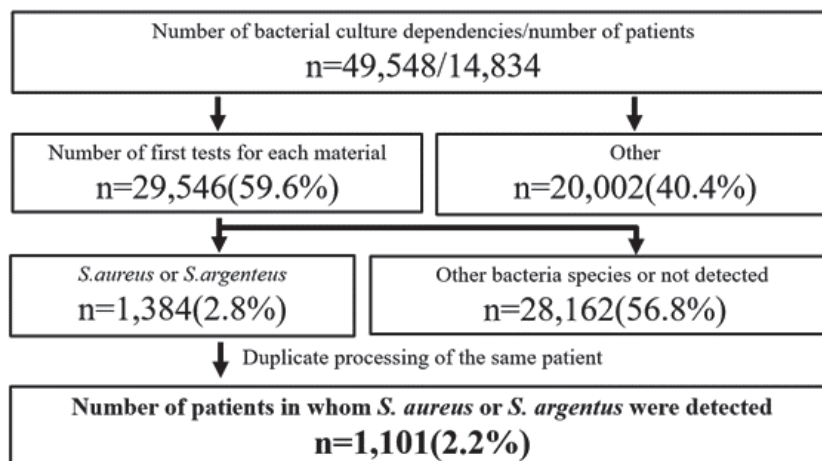


Figure 1. Method of selection of subjects for this study

version 7854, 2020 年 4 月から 2020 年 6 月まで library version 8468 であった。

4. 薬剤感受性検査

薬剤感受性の判定については, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) において, 検査法およびブレイクポイントカテゴリーは *S. aureus* の解釈に従って報告することが承認されている⁹⁾。血液寒天培地に発育した集落をプロンプト法を使用して菌液を調整し, マイクロスキャン POS MIC 2J (ベックマン・コールター) に分注した。分注したパネルをマイクロスキャン WalkAway 96Plus (ベックマン・コールター) に装填し, 35℃ で 18 時間, 好気環境下で培養したのち MIC を測定した。*S. aureus* および *S. argenteus* は, oxacillin (MIPIC) の MIC が 4 μg/mL 以上または ceftioxin (CFX) の MIC が 8 μg/mL 以上の場合をメチシリン耐性と判定した。

5. 解析

S. aureus および *S. argenteus* の検出数, および患者の性別, 年齢, 検出材料, メチシリン耐性に関してデータベースの解析を行った。また有意差の検討には χ^2 検定で, 有意差の確認を行った。

結 果

1. 検出数

対象期間の細菌培養検査は 49,448 件 (14,834 人) であった。*S. aureus* および *S. argenteus* が検出されたのは 1,384 件で, 重複除外処理を行って残ったのは 1,101 件となった。*S. aureus* の検出数は 1,081 件 (98.2%), *S. argenteus* の検出数は 20 件 (1.8%) であった。詳細は Figure 1 に示した。

2. 患者の性別, 年齢

患者の属性に関する結果を Table 1 に示した。性別に関して, *S. aureus* が検出された 1,081 件のうち, 男性は 616 件 (57.0%), 女性は 465 件 (43.0%) であった。*S. argenteus* が検出された 20 件のうち男性は 9 件 (45%), 女性は 11 件 (55%) であった。年齢に関して, *S. aureus* が検出された 1,081 件のうち, 60 歳以下は 449 件 (41.5%), 61 歳以上は 632 件 (58.5%) であった。*S. argenteus* が検出された 20 件のうち

Table 1. Sex and age of patients with *S. aureus* and *S. argenteus* detected in this study

	Number of patients (%)	
	<i>S. aureus</i>	<i>S. argenteus</i>
Sex		
Male	616 (57.0)	9 (45.0)
Female	465 (43.0)	11 (55.0)
Age		
Age range	0-101	1-96
Median Age	69	79
Age group		
0-20	237 (21.9)	2 (10.0)
21-40	77 (7.1)	2 (10.0)
41-60	135 (12.5)	1 (5.0)
61-80	296 (27.4)	5 (25.0)
81-100	335 (31.0)	10 (50.0)
101-	1 (0.1)	0 (0)

Table 2. Clinical materials in which *S. aureus* and *S. argenteus* were detected in this study

	Number of strains (%)	
	<i>S. aureus</i>	<i>S. argenteus</i>
Total materials	1,362	22
Sputum	376 (27.6)	11 (50.0)
Pus	111 (8.1)	4 (18.2)
Blood	62 (4.6)	2 (9.1)
Wound	73 (5.4)	2 (9.1)
Urine	115 (8.4)	1 (4.5)
Vaginal discharge	28 (2.1)	1 (4.5)
Artificial inserts	18 (1.3)	1 (4.5)
Other	579 (42.5)	0 (0)

60 歳以下は 5 件 (25.0%), 61 歳以上は 15 件 (75.0%) であった。

3. 検出材料

各材料初回検出に関する結果を Table 2 に示した。*S.*

Table 3. Clinical characteristics of patients which detected *Staphylococcus argenteus*

No.	Clinical material	Target or non-target	Empiric therapy	Antimicrobial change	Main disease
1	Sputum	non-target	none	no change	Frontal lobe tumor
2	Pus	target	CEX, GM	no change	Wound infection
3	Pus, Blood	target	ABPC/SBT, ABPC, VCM	no change	Cellulitis, sepsis
4	Sputum	non-target	ABPC/SBT	no change	Acute myocardial infarction
5	Sputum	non-target	VCM, PIPC/TAZ	no change	Bedsore infection, urinary infection
6	Pus	target	LVFX	no change	Wound infection
7	Sputum	non-target	ABPC/SBT	no change	Supraventricular tachycardia
8	Sputum	non-target	ABPC/SBT	no change	Acute myocardial infarction
9	Wound	non-target	none	no change	Nail dysplasia
10	Sputum	non-target	ABPC/SBT	no change	Pneumonia
11	Sputum	non-target	CTRX, PIPC/TAZ	no change	Pneumonia
12	Sputum	non-target	none	no change	Frontal lobe glioblastoma
13	Urine	non-target	CTRX, CEX	AMPC	Pyelonephritis
14	Artificial insertspus	target	ABPC/SBT	no change	Pneumothorax, Drain infection
15	Vaginal discharge	non-target	none	no change	Bacterial survey
16	Blood	target	PIPC/TAZ	CEZ	Hepatic encephalopathy, Cellulitis
17	Sputum	non-target	ABPC/SBT	no change	Pneumonia
18	Sputum	non-target	CTRX	no change	Pneumonia
19	Wound	target	silver sulfadiazine	no change	Skin ulcer
20	Sputum	non-target	CMZ	no change	Pneumonia

aureus が検出された 1,362 件のうち喀痰からの検出は 376 件 (27.6%)、膿からの検出は 111 件 (8.1%)、血液からの検出は 62 件 (4.6%) であった。S. *argenteus* が検出された 22 件のうち喀痰からの検出は 11 件 (50.0%)、膿からの検出は 4 件 (18.2%)、血液からの検出は 2 件 (9.1%) であった。

4. メチシリン耐性

検出された S. *aureus* 1,081 件のうち、薬剤感受性検査を行ったのは、1,013 件でメチシリン感性和判定されたのは 611 件 (60.3%)、メチシリン耐性と判定されたのは 402 件 (39.7%) であった。検出された S. *argenteus* 20 件のうち、薬剤感受性検査を行ったのは、16 件でメチシリン感性和判定されたのは 15 件 (93.75%)、メチシリン耐性と判定されたのは 1 件 (6.25%) であった。

考 察

今回われわれが検討したデータでは、当院では S. *argenteus* は、S. *aureus* complex における 1.8% の割合で存在することが分かった。メチシリンの耐性率に関する検討では、メチシリン耐性 S. *aureus* complex に占めるメチシリン耐性 S. *argenteus* は 0.25% (1/403) であった。Meiji らの検討¹⁰⁾では、4,378 株の methicillin-resistant S. *aureus* (MRSA) に対し、1 株がメチシリン耐性 S. *argenteus* であり、メチシリン耐性 S. *aureus* complex に占めるメチシリン耐性 S. *argenteus* を計算すると 0.02% (1/4,379) であった。当院での検討数が少なかったことが原因で、S. *argenteus* のメチシリン耐性率が高率になってしまったと考えられる。

検討期間において細菌検査を行った全患者数は 14,834 人、男性 7,412 人 (50.0%)、女性 7,422 人 (50.0%)、60 歳以上 7,252 人 (48.9%)、61 歳以上 7,582 人 (51.1%) であった。検出性別を評価すると、男性の検出率は 0.12% (9/7,412)、女性の

検出率は 0.15% (11/7,422) であり、有意差を認めなかった。検出年齢を評価すると、60 歳以下の検出率は 0.07% (5/7,252)、61 歳以上の検出率は 0.20% (15/7,582) であった。S. *argenteus* のサンプル数が少なかったこともあり、統計学的に有意な差は認められなかったが、高齢者での検出が多い傾向があると考えられた。Janjira らが行った検討²⁾では、S. *argenteus* に感染した患者年齢が、MSSA に感染した患者年齢に比べて、高かったという結果が示されており、本検討の見解とも一致した。メチシリン耐性率を評価すると、S. *argenteus* は S. *aureus* に比較すると低く、薬剤耐性化は進んでいないと推測されるが、staphyloxanthin を産生しないために MRSA を検出対象とする各種スクリーニング培地で見逃されている可能性も考えられる。

検出された S. *argenteus* に関して、電子カルテの記載に基づいて起炎菌か、コンタミネーションおよび保菌であるかの判定を行った。その結果を Table 3 に示す。起炎菌として治療された症例は 6 例で、膿および創部、血液培養から検出された症例であった。S. *argenteus* は皮膚・軟部組織感染症や表在性膿瘍、菌血症との関連性が報告されており²⁾³⁾、本検討の結果とも一致している。検出が最も多かった喀痰から検出された症例は、全ての症例で起炎菌として扱われていなかった。起炎菌として治療が行われている症例のうち、結果の報告に伴い抗菌薬が変更された症例は 1 例であった。S. *argenteus* は、CNS の一種ではなく S. *aureus* の類縁種であり、S. *aureus* に準じた治療が必要であることを臨床医や微生物検査技師が正しく認識することが重要である。

今回の検討には limitation が存在する。検討期間が 1 年 2 カ月と短く、単施設での検討であるため、地域における疫学を把握するためには、継続的なモニタリングおよび多施設共同での検討が望ましいと考えられる。

結 語

S. argenteus は *S. aureus* complex において 1.8% の割合で存在することが分かった。*S. aureus* と比較すると、性別間の差はないが、高齢者および喀痰や膿からの検出が多く、メチシリン耐性率は低いことが分かった。

本論文の要旨は第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会 (2021 年 1 月) で発表した。

利益相反: 本研究に関連し開示すべき COI 関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) Tong, S. Y. C., F. Schaumburg, M. J. Ellington, et al. 2015. Novel staphylococcal species that form part of a *Staphylococcus aureus*-related complex: the non-pigmented *Staphylococcus argenteus* sp. nov. and the non-human primate-associated *Staphylococcus schweitzeri* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* 65: 15-22.
- 2) Thaipadungpanit, J., P. Amornchai, E. K. Nickerson, et al. 2015. Clinical and molecular epidemiology of *Staphylococcus argenteus* infections in Thailand. *J. Clin. Microbiol* 53: 1005-1008.
- 3) Chantaratita, N, C Wikraiphat, S Tandhavanant, et al. 2016. Comparison of community-onset *Staphylococcus argenteus* and *Staphylococcus aureus* sepsis in Thailand: a prospective multicentre observational study. *Clin Microbiol Infect* 22: 458.e11-458.e19.
- 4) 高橋志保, 今野貴之, 樫尾拓子, 他. 2020. 食中毒事例で分離された *Staphylococcus argenteus* の同定と性状解析. 日本食品微生物学会雑誌 37 (1): 20-23.
- 5) Söderquist, B., P. Wildeman, B. Stenmark, et al. 2020. *Staphylococcus argenteus* as an etiological agent of prosthetic hip joint infection: A case presentation. *Bone Jt. Infect* 5: 172-175.
- 6) Rigai, J, F Grattard, S Grange, et al. 2017. Community-Acquired *Staphylococcus argenteus* Sequence Type 2250 Bone and Joint Infection, France. *Emerg Infect Dis* 24: 1958-1961.
- 7) Chen, S.Y., H. Lee, X.M. Wang, et al. 2018. High mortality impact of *Staphylococcus argenteus* on patients with community-onset staphylococcal bacteraemia. *Int. J. Antimicrob. Agents* 52: 747-753.
- 8) Zhang, DF, X Xu, Q Song, et al. 2016. Identification of *Staphylococcus argenteus* in Eastern China based on a nonribosomal peptide synthetase (NRPS) gene. *Future Microbiol* 11: 1113-1121.
- 9) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2021. "Table 2 C. Zone diameter and MIC breakpoints for *Staphylococcus* spp.", M100-Ed31, 64-74, CLSI, USA.
- 10) Aung, M. S., N. Urushibara, M. Kawaguchiya, et al. 2021. Distribution of Virulence Factors and Resistance Determinants in Three Genotypes of *Staphylococcus argenteus* Clinical Isolates in Japan. *Pathogens* 10 (2): 163.
- 11) Yeap, AD, K Woods, DAB Dance, et al. 2017. Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections in the Lao People's Democratic Republic. *Am J Trop Med Hyg* 97: 423-428.

Retrospective study on the detection of *Staphylococcus argenteus*

Yukihiro Teramoto¹⁾, Yuki Hara¹⁾, Naoki Yamada¹⁾, Sachie Asai¹⁾, Yusuke Nomura¹⁾, Yuka Tomita²⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Japanese Red Cross Nagoya Daini Hospital

²⁾Division of Infection Control, Japanese Red Cross Nagoya Daini Hospital

Staphylococcus argenteus is similar to *Staphylococcus aureus* and may be misidentified as *S. aureus* or misidentified as Coagulase-negative staphylococci (CNS). However, in recent years, identification by mass spectrometry has become possible, and detection has become possible at our hospital. In this study, we analyzed 1,101 isolates of *S. aureus* and *S. argenteus* from patient materials between April 2019 and June 2020. *S. argenterus* was detected in 9 males and 11 females, and the age range was 1-96 years (median 79 years). Sputum was detected in 11 cases (50.0%), pus in 4 cases (18.2%), blood in 2 cases (9.1%), wound in 2 cases (9.1%), others in 3 cases (13.6%), and multiple materials in 2 cases. Drug susceptibility testing was performed in 16 cases, methicillin-sensitive: 15 cases (93.75%), resistant: 1 case (6.25%). Analysis of detection trends showed that there was no difference between sexes, but there were more cases detected in the elderly and in sputum and pus, suggesting a low rate of methicillin resistance.