[症例報告]

Staphylococcus argenteus ST2250 によるバスキュラーアクセス感染症の 1 例

金子奈緒実¹⁾・伊藤志昂^{1) 2)}・大塚昌信^{1) 2)}・吉田美江子¹⁾・中山晴雄²⁾
東邦大学医療センター大橋病院臨床検査部
²⁾ 東邦大学医療センター大橋病院感染対策室

(令和3年11月19日受付,令和4年5月19日受理)

Staphylococcus argenteus は Staphylococcus aureus から分類された新たなブドウ球菌種である。 S. aureus と生化学的性状が極めて類似しており、この種を正しく識別することは日常的な検査では困難である。今回我々は、S. argenteus ST2250 によるバスキュラーアクセス感染症の症例を経験した。本症例は S. aureus に特徴的な色素産生が認められなかったことから本菌の可能性を疑い、Non-Ribosomal Peptide Synthetase (NRPS) 遺伝子の増幅産物および rpoB 遺伝子の塩基配列を確認し S. argenteus と再同定された。Multi-locus sequence typing (MLST) 解析の結果、本菌は日本やタイをはじめ多くの地域で分離されている ST2250 に属するクローン株であることが判明した。今後本菌が地域および医療関連感染に及ぼす臨床的影響を注視していく必要がある。

Key words: Staphylococcus argenteus, バスキュラーアクセス感染症, NRPS, ST2250

序 文

S. argenteus は 2015 年に S. aureus から新たに分類されたコアグラーゼ陽性ブドウ球菌の新種で¹⁾, 近年検出例が増加している²⁾。本菌は S. aureus と生化学的性状が極めて類似しており, 菌種同定には Multi-locus sequence typing (MLST) や nuc 遺伝子領域の塩基配列による同定が必要とされている³⁾。生化学的性状を元にした日常的な検査では同定困難とされていたが, 最新のデータベースによる MALDITOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) を用いることにより菌種同定が可能である⁴⁾。

本菌は、オーストラリア北部で分離された sequence type (ST) 75 に属する菌株が最初の報告であり 50 , ニュージーランド、アフリカ、アメリカ大陸、アジアおよびヨーロッパなど様々な地域から報告されている $^{50\sim100}$ 。

今回我々は S. argenteus ST2250 による国内最初のバスキュラーアクセス (vascular access: VA) 感染症を経験したので報告する。

症 例

患者:80歳代女性。

既往歴:高血圧,糖尿病,慢性腎不全(糖尿病性腎症のため7年前から血液透析中)。

糖尿病性腎症による慢性腎不全で維持透析中であり、当院

著者連絡先:(〒153-8515) 東京都目黒区大橋 2-22-36

東邦大学医療センター大橋病院臨床検査部 金子奈緒実

亚] 示相大

TEL: 03-3468-1251 Ext. 3406

FAX: 03-3468-1901

E-mail: naomi.kaneko@med.toho-u.ac.jp

腎臓内科にかかりつけの患者。近隣のクリニックにて透析後に37℃台の発熱を認め、発症2日目の昼に脱力および嘔吐が認められたため当院へ救急搬送となった。来院時のバイタルサインおよび血液検査結果を表1に示す。自己血管内シャント吻合部に発赤、腫脹、圧痛を認め感染が疑われた。全身状態は比較的安定していたことから血液培養2セットを採取後、amoxicillin/clavulanic acid(AMPC/CVA)(500 mg/day)4日分処方の上帰宅となった。

血液培養からブドウ球菌様のグラム陽性球菌が検出され、後に MSSA と同定された。患者は近隣のクリニックにて cefazolin(CEZ)(1 g/day)の投与が行われ、その後患者は軽快し治療終了となった。

微生物学的検査

血液培養検査はBACTEC FX (日本ベクトン・ディッキンソン) にて22F嫌気用レズンボトルと23F好気用レズンボトルを用いて行った。受診時に2セット採取された血液培養は15時間培養にて4本全て陽性となった。フェイバーG「ニッスイ」(日水製薬)を用いてグラム染色を行ったところ、ブドウ球菌様のグラム陽性球菌を認めた。

サブカルチャーはヒツジ血液寒天培地(日水製薬),チョコレート II 寒天培地(日本ベクトン・ディッキンソン),変法卵黄加マンニット食塩培地(日水製薬),MRSA ID 寒天培地(ビオメリュー・ジャパン)を使用し、35℃ 好気培養を行った。24 時間培養後,ヒツジ血液寒天培地にスムース型白色,γ溶血,約3 mm 大のコロニーを認めた。しかし,48 時間培養後も S. aureus に特徴的な黄色色素の産生は認められなかった(図 1)。変法卵黄加マンニット食塩培地はマンニット分解弱陽性および卵黄反応陽性であり,MRSA ID 寒天培地への発育は認めなかった。カタラーゼ試験および PSラテックス '栄研'(栄研化学)を用いたクランピング因子

バイタルサイン		生化学的検査		血液学的検査	
血圧	176/66 mmHg	TP	7.3 g/dL	WBC	$12 \times 10^3 / \mu L$
脈拍	88 回/分	ALB	$3.4~\mathrm{g/dL}$	RBC	$4.35\times10^6~/\mu L$
体温	39.3 ℃	AST	17 U/L	Hb	11.5 g/dL
SpO2(室内気)	92 %	ALT	8 U/L	Ht	36.6 %
		BUN	41 mg/dL	PLT	$165 \times 10^3 / \mu L$
		CREA	$6.62~\mathrm{mg/dL}$		
		Na	135 mmol/L		
		K	4.5 mmol/L		
		Cl	98 mmol/L		
		CRP	5.85 mg/dL		
		GLU	$134~\mathrm{mg/dL}$		

表 1. 来院時のバイタルサイン・血液検査結果

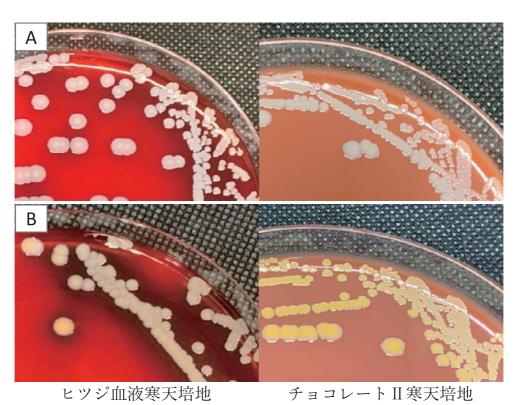


図 1. A:S. argenteus B:S. aureus (ATCC29213) 35℃ 48 時間培養後

試験は陽性であった。

同定および薬剤感受性検査は、MicroScan WalkAway Pos Combo 2T panel(ベックマン・コールター)を用いて行った。結果は S. aureus 99.99%(biotype: 317137)と同定された。薬剤感受性のカテゴリーは Clinical and Laboratory Standards Institute M100-S26¹¹¹のブレイクポイントに従い判定し、検討を行った薬剤すべてに感性を示した(表 2)。Penicillin G zone-edge test は陰性であった。

S. aureus に特徴的な黄色色素の産生が認められなかったことから、非リボソーム依存性ポリペプチド合成酵素(Non-Ribosomal Peptide Synthetase: NRPS)領域を target とした PCR を実施した¹²⁾。さらに rpoB の塩基配列の相同性を確認し¹³⁾,Kitagawa らの報告にある方法で MLST 解析を行った結果¹⁴⁾,ST2250 に属する S. argenteus と同定された。

S. aureus に一般的に関連する耐性および病原因子であるmecA, ブドウ球菌エンテロトキシン (sea, seb, sec, sed, see), 皮膚剥離毒素 (eta, etb), toxic shock syndrome toxin-1 (tst-I), Panton Valentine leucocidin (lukS-PV-lukF-PV) 遺伝子は全て陰性であった tist(15)0.

なお、後日 MALDI Biotyper Sirius(ブルカージャパン)による同定を実施した結果、S. argenteus (Score value 2.02) と同定された。Library は、MBT Compass Library ver.10.0を使用した。

考 察

S. argenteus は 2015 年に S. aureus から新たに分類された菌種として報告され、ヒトや動物から主に検出されている¹⁾。 S. argenteus は S. aureus 同様に皮膚軟部組織感染症や肺感

表 2. 分離菌株の薬剤感受性 (MIC)

$MIC~(\mu g/mL)$	判定
< 0.12	S
<4	S
< 0.25	S
<4	S
<1	S
<1	S
< 0.5	S
< 0.5	S
<1	S
< 0.5	S
<1	S
<2	S
2	S
< 0.25	S
< 0.5/9.5	S
<1	S
	<0.12 <4 <0.25 <4 <1 <1 <0.5 <0.5 <1 <0.5 <1 <2 2 <0.25 <0.5/9.5

染症、敗血症など様々な疾患を引き起こすことが知られてい る²⁰。多くの生化学的性状が類似している一方で, S. aureus と異なり、黄色色素を産生するスタフィロキサンチンの産生 遺伝子が欠落していることから210, 白色のコロニーを形成す ることが特徴の一つである。中国では色素産生が認められな い S. aureus の約1割に S. argenteus が含まれていたことが 報告されている 12 。本症例は S. aureus に特徴的な色素産生 が認められなかったことから S. argenteus の可能性を疑い, NRPS 遺伝子の増幅産物、および rpoB 遺伝子の塩基配列を 確認した。S. argenteus の最も信頼性の高い同定法は MLST であると報告されているが120,高コストかつ煩雑な手法であ り、より安価で簡単な方法が求められる。その点、今回我々 が用いた NRPS 遺伝子領域を target とした PCR 法は, S. argenteus と比較し S. aureus の塩基配列が約 180 bp 欠失し ていることを利用した比較的簡便な方法である。この方法に より、コロニーの色調と PCR のアンプリコンのサイズの違 いから、S. argenteus と S. aureus を区別することが可能で ある。すなわち、白色のコロニーで約340 bp のアンプリコ ンが認められた場合は S. argenteus, 黄色のコロニーで約 160 bp の場合は S. aureus と同定することが可能である。本 解析方法は塩基配列の確認をせずにこれらの株を迅速かつ簡 便に鑑別可能な点から、S. argenteus の同定法に非常に有用 であると考えられた。また、最近では最新のデータベースに よる質量分析によっても同定可能であることから⁴、今後広 く本菌が認知されていくことが予想される。

患者は7年前から糖尿病性腎症により透析治療を行っており、今回発熱に伴い VA 感染症が疑われ、血液培養から本菌が分離された。

VA 感染症は、患者にとって生命線である VA の維持を困難にするだけでなく、容易に敗血症になり患者の生命予後を脅かす重大な合併症である。Tseng らの報告によると VA 感染症の原因菌の大多数はブドウ球菌種が 6 割程度を占め、その中で S. aureus が最も多く、CNS(Coagulase-negative staphylococci)および S. argenteus がそれに続いている²²⁾。

黄色ブドウ球菌感染症の場合は重篤になりやすく、その致死率は 20% と高い $^{23)}$ 。また、オーストラリアでは主に ST75に属するメチシリン耐性 S. argenteus が多く報告されており $^{24)25}$,国内でもメチシリン耐性株が 1 例報告されている $^{20)}$ 。さらに、米国ではダプトマイシンに耐性を獲得した株も報告されているため 26 ,本菌の今後の薬剤耐性の獲得が懸念される。

S. argenteus は当初 S. aureus と比較して病原性が低いと 考えられてきたが、ゲノム解析の結果 S. aureus の保有する 111 種類の病原因子のうち, 85 種類 (76.6%) が S. argenteus でも発見されている
の。本菌はブドウ球菌エンテロトキシン、 皮膚剥離毒素、TSST-1やPVLなどのブドウ球菌に一般的 な病原因子は陰性であった。しかし、台湾の病院において S. argenteus 菌血症は MSSA 菌血症と比較し、高い死亡率 に関連していることも報告されており²⁸⁾, S. argenteus の病 原性は低くないと考えられる。S. argenteus と同定・報告し た場合、医師が聞いたことのない菌名のために CNS と誤認 識してしまう可能性がある。このため、病原性や臨床的意義 を過小評価してしまわないよう, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) のワー キンググループは S. argenteus を "S. aureus complex" と 報告することを推奨している3。これに準じて当検査室にお いても S. argenteus であることが判明したが、最終報告を MSSA とした。

本症例では当院受診後、近隣のクリニックでの治療となった。そのため当院での血液培養の陰性化確認は行われておらず、またクリニックでの CEZ の投与期間は不明であった。本来は血液培養の陰性化の確認、および本症例は血液透析中のため CEZ 1 g/day 連日投与、また透析日においては透析後 0.5~1 g 追加投与を行う必要があった。外来患者においては、週に3回、月・水曜は透析後2g、金曜は透析後3gの投与方法が推奨されている(日本語版サンフォード感染症治療ガイド、2020)。 MSSA 菌血症の治療期間は病因によって異なるが、標準的には4~6週間行う必要があり、感染性心内膜炎や骨髄炎などの合併症が無かった場合、4週間の治療が妥当であったと考えられた。

S. argenteus は 2006 年にオーストラリア北部で分離された ST75 に属する菌株が最初の報告であり、その後 ST1223、ST2198、ST2250、ST2596、ST2854 を含む様々な ST が報告されている $^{2(3)27)}$ 。本菌は MLST 解析の結果、日本を含む東アジア、ヨーロッパなど様々な地域から分離されているタイプと同じ ST2250 であり $^{27)}$ 、広範囲な地理分布を持つ優勢なクローンであると考えられている。国内では、ST2250 の他に、ST1223、ST2198 が報告されており $^{22)\sim34)}$ 、そのうち ST2250 は感染性大動脈瘤、化膿性リンパ節炎、カテーテル関連血流感染症および下肢蜂窩織炎由来の菌血症の症例から検出されている $^{29)(3(3)34)}$ 。

台湾の病院では、VA 感染症の患者から分離された 150 株 を解析したところ、11 株 (7.3%) が S. argenteus であり、全 て ST2250 であったことが報告されている 20 。本菌は S. aureus 同様に VA 感染症の原因菌として重要な病原体の一つではないかと考えられた。

渉猟した限り本報告は、国内で最初の S. argenteus ST

2250によるVA感染症の報告である。S. argenteus の病原因子や臨床的影響,また地域での広がりや感染予防・管理の重要性を考慮すると本菌を正確に同定する必要がある。また,MALDI-TOF MSでの同定などで今後報告が増加するに従い,臨床像が S. aureus と異なるかどうかについて知見が蓄積されることを期待する。今後,本菌における感染症の臨床症状や転帰に関する詳細な調査およびサーベイランスが望まれる。

謝辞:本菌株の MALDI Biotyper Sirius による同定を実施いただいた(株)LSI メディエンスの皆様に深謝申し上げます。

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)において発表した。

利益相反:申告すべき利益相反なし

文 献

- Tong Steven, 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. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 65: 15-22.
- Chantratita, 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. Clinical microbiology and infection 22: e11-e19.
- 3) Becker, K., F. Schaumburg, A. Kearns, et al. 2019. Implications of identifying the recently defined members of the Staphylococcus aureus complex S. argenteus and S. schweitzeri: a position paper of members of the ESC-MID Study Group for Staphylococci and Staphylococcal Diseases (ESGS). Clinical microbiology and infection 25: 1064-1070.
- Chen, S-Y, H Lee, S-H Teng, et al. 2018. Accurate differentiation of novel Staphylococcus argenteus from Staphylococcus aureus using MALDI-TOF MS. Future Microbiology 13: 997-1006.
- 5) Malcolm, MD, A Dougall, D Holt, et al. 2006. Use of a Single-Nucleotide Polymorphism Genotyping System to Demonstrate the Unique Epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Remote Aboriginal Communities. Journal of Clinical Microbiology 44: 3720-3727.
- Monecke, S., B. Stieber, R. Roberts, et al. 2014. Population structure of *Staphylococcus aureus* from Trinidad & Tobago. PloS one 9: e89120.
- 7) Schuster, D, R Jasmin, G Mike, et al. 2017. Differentiation of Staphylococcus argenteus (formerly: Staphylococcus aureus clonal complex 75) by mass spectrometry from S. aureus using the first strain isolated from a wild African great ape. International Journal of Medical Microbiology 307: 57-63.

- 8) Ritchie, S. R., M. G. Thomas, P. B. Rainey. 2014. The genetic structure of *Staphylococcus aureus* populations from the Southwest Pacific. PloS one 9: e100300.
- Rigaill, J., F. Grattard, S. Grange, et al. 2018. Community-Acquired Staphylococcus argenteus Sequence Type 2250 Bone and Joint Infection, France, 2017. Emerging Infectious Diseases 24: 1958-1961.
- 10) Chen, S., H. Lee, X. Wang, et al. 2018. High mortality impact of *Staphylococcus argenteus* on patients with communityonset staphylococcal bacteraemia. International journal of antimicrobial agents 52: 747-753.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2016.
 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 26th ed.
- 12) Zhang, D., X. Xu, Q. Song, et al. 2016. Identification of Staphylococcus argenteus in Eastern China based on a nonribosomal peptide synthetase (NRPS) gene. Future microbiology 11: 1113-1121.
- Michel, D, D Raoult. 2002. rpoB Gene Sequence-Based Identification of Staphylococcus Species. Journal of Clinical Microbiology 40: 1333-1338.
- 14) Kitagawa, H., H. Ohge, J. Hisatsune, et al. 2020. Low incidence of Staphylococcus argenteus bacteremia in Hiroshima, Japan. Journal of infection and chemotherapy: official journal of the Japan Society of Chemotherapy 26: 140-143.
- 15) Poulsen, A. B., R. Skov, L. V. Pallesen. 2003. Detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci and in staphylococci directly from simulated blood cultures using the EVIGENE MRSA Detection Kit. Journal of antimicrobial chemotherapy 51: 419-421.
- 16) Yehia, H., E. Ismail, Z. Hassan, et al. 2019. Heat resistance and presence of genes encoding staphylococcal enterotoxins evaluated by multiplex-PCR of *Staphylococcus aureus* isolated from pasteurized camel milk. Bioscience reports 39: BSR20191225.
- 17) JARRAUD, S., C. MOUGEL, J. THIOULOUSE, et al. 2002. Relationships between *Staphylococcus aureus* Genetic Background, Virulence Factors, agr Groups (Alleles), and Human Disease. Infection and Immunity 70: 631-641.
- 18) MEHROTRA, M., G WANG, W. M. JOHNSON. 2000. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. Journal of clinical microbiology 38: 1032-1035.
- 19) Lina, G., Y. Piémont, F. Godail-Gamot, et al. 1999. Involvement of Panton-Valentine Leukocidin—Producing Staphylococcus aureus in Primary Skin Infections and Pneumonia. Clinical Infectious Diseases 29: 1128-1132.
- 20) 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: 163.
- 21) Holt, D. C., M. T. G. Holden, S. Y. C. Tong, et al. 2011. A Very Early-Branching *Staphylococcus aureus* Lineage Lacking the Carotenoid Pigment Staphyloxanthin. Genome

- biology and evolution 3: 881-895.
- 22) Tseng, Y-H, W M Yi, T-Y Huang, et al. 2020. Molecular characterization of clinical isolates from vascular access infection: A single-institution study. MicrobiologyOpen 9: e1126
- 23) Turnidge, J. D., D. Kotsanas, W. Munckhof, et al. 2009. Staphylococcus aureus bacteraemia: a major cause of mortality in Australia and New Zealand. Medical journal of Australia 191: 368-373.
- 24) MCDONALD, M., A. DOUGALL, B. J. CURRIE, et al. 2006. Use of a Single-Nucleotide Polymorphism Genotyping System to Demonstrate the Unique Epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Remote Aboriginal Communities. Journal of Clinical Microbiology 44: 3720-3727.
- 25) TONG, S. Y. C., B. K. SHARMA-KUINKEL, D. C. HOLT, et al. 2013. Virulence of endemic nonpigmented northern Australian Staphylococcus aureus clone (clonal complex 75, S. argenteus) is not augmented by staphyloxanthin. The Journal of infectious diseases 208: 520-527.
- 26) Hao, S., M. Abdelghany, A. Lyden, et al. 2020. Genomic Profiling of Evolving Daptomycin Resistance in a Patient with Recurrent Staphylococcus argenteus Sepsis. Antimicrobial agents and chemotherapy 64: 961.
- 27) Zhang, D-F, X-Y Zhi, J Zhang, et al. 2017. Preliminary comparative genomics revealed pathogenic potential and international spread of Staphylococcus argenteus. BMC Genomics 18: 808.

- 28) Chen, S., H. Lee, X. Wang, et al. 2018. High mortality impact of Staphylococcus argenteus on patients with communityonset staphylococcal bacteraemia. International journal of antimicrobial agents 52: 747-753.
- 29) Mitsutake, K., N. Watanabe, H. Karaushi, et al. 2020. Thoracic aortic mycotic aneurysm due to Staphylococcus argenteus: A case report. J. Infect. Chemother 26: 1213-1215.
- 30) Yamada, K, M Sasaki, W Imai, et al. 2020. Bacterial keratoconjunctivitis caused by Staphylococcus argenteus belonging to sequence type 1223 isolated in Japan. Journal of Infection and Chemotherapy 26: 1002-1004.
- 31) Suzuki, Y, H Kubota, H K. Ono, et al. 2017. Food poisoning outbreak in Tokyo, Japan caused by Staphylococcus argenteus. Int. J. Food Microbiol 262: 31-37.
- 32) Wakabayashi, Y, K Umeda, S Yonogi, et al. 2018. Staphylococcal food poisoning caused by Staphylococcus argenteus harboring staphylococcal enterotoxin genes. Int. J. Food Microbiol 265: 23-29.
- 33) Ohnishi, T., M. Shinjoh, H. Ohara, et al. 2018. Purulent lymphadenitis caused by Staphylococcus argenteus, representing the first Japanese case of Staphylococcus argenteus (multilocus sequence type 2250) infection in a 12-year-old boy. Journal of infection and chemotherapy: official journal of the Japan Society of Chemotherapy 24: 925-927.
- 34) Kitagawa, H., H. Ohge, J. Hisatsune, et al. 2020. Low incidence of Staphylococcus argenteus bacteremia in Hiroshima, Japan. Journal of infection and chemotherapy: official journal of the Japan Society of Chemotherapy 26: 140-143.

Vascular access infection by Staphylococcus argenteus ST2250 in a Patient with diabetic nephropathy

Kaneko Naomi ¹⁾, Yukitaka Ito ^{1) 2)}, Masanobu Ohtsuka ^{1) 2)}, Mieko Yoshida ¹⁾, Haruo Nakayama ²⁾ ¹⁾ Division of Clinical Microbiology Laboratory, Toho University Ohashi Medical Center ²⁾ Department of Infection and Prevention, Toho University Ohashi Medical Center

Staphylococcus argenteus is a new species of coagulase-positive staphylococci. S. argenteus is very similar to S. aureus in biochemical properties and cannot be distinguished by routine testing. However, this isolate differs from S. aureus in that it does not produce a yellow pigment and forms white colonies. We report the first case of vascular access infection caused by S. argenteus in a female patient in Japan.

She had symptoms of redness at the insertion site of the vascular access and fever, which were relieved by Cefazolin. S. aureus-like colonies were obtained from the blood cultures submitted to the laboratory. The isolates were identified as S. argenteus by PCR of the non-ribosomal peptide synthetase (NRPS) gene and sequencing of the rpoB gene. The result of multi-locus sequence typing analysis showed that the sequence type was ST2250. In Taiwan, 11 isolates (7.3%) of the 150 isolates from vascular access infection were reported to be S. argenteus, all of which were ST2250.

The relationship between S. argenteus and vascular access infection should be focused on in future studies.