

[症 例 報 告]

オキサシリン感性 *mecA* 陽性黄色ブドウ球菌による菌血症の1例

鈴木 裕¹⁾・茜谷大輔¹⁾・山口優花¹⁾・根本信太郎²⁾・阿部修一³⁾

¹⁾ 山形県立中央病院検査部

²⁾ 山形県立中央病院整形外科

³⁾ 山形県立中央病院感染症内科

(令和4年7月12日受付, 令和4年9月30日受理)

mecA を保有しているにも関わらず薬剤感受性試験でオキサシリン感性和判定されるオキサシリン感性メチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) による菌血症症例を経験した。患者は発熱と大きな皮下膿瘍を主訴として来院し、膿検体のグラム染色で集塊状グラム陽性球菌を認めたため、MRSA 感染症の可能性を考慮して入院初期よりダブトマイシンを投与された。その後血液培養で *S. aureus* が検出されたが、*mecA* の保有が確認されたものの、薬剤感受性はオキサシリン、セフォキシチン共に感性であるメチシリン感性 *S. aureus* を示唆しており、遺伝子型と表現型に矛盾を認める OS-MRSA であった。患者は抗 MRSA 薬の投与が継続され解熱に至った。OS-MRSA は臨床的に MRSA として取り扱う必要があると考えられることから、*mecA* の検出が適正な抗菌薬の使用継続に寄与した症例であった。OS-MRSA の同定には他の *mecA* 陽性菌の混入のないことを確認する必要があるため、PSP2a 検出試薬や MRSA スクリーニング培地の併用が有用と考えられる。

Key words: *Staphylococcus aureus*, OS-MRSA, *mecA*, 薬剤耐性, 遺伝子検査

序 文

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) はヒトの最も一般的な病原菌の一つで、主に下気道感染症、皮膚・軟部組織感染症、菌血症、心内膜炎などの起因菌となる¹⁾。メチシリン耐性 *S. aureus* (methicillin-resistant *S. aureus*; MRSA) は *mecA* または *mecC* によりコードされるβラクタム系抗菌薬 (以下、βラクタム) 低親和性ペニシリン結合蛋白 (以下、PBP2a) を獲得することでメチシリン、オキサシリン、セフォキシチンを含む多くのβラクタムに耐性を示す *S. aureus* である^{1,2)}。MRSA による感染症はメチシリン感性 *S. aureus* (methicillin-susceptible *S. aureus*; MSSA) と比較して死亡率が高く、臨床で最も重要な薬剤耐性菌の1つである^{1,3)}。

一般に MRSA は、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ガイドライン⁴⁾の定める方法に準拠した微量液体希釈法またはディスク拡散法による薬剤感受性試験にてオキサシリンまたはセフォキシチン耐性の表現型を確認することにより同定される。しかし近年、遺伝子検査の普及に伴い、PCR 法を利用した *mecA* 遺伝子検出による MRSA の同定が一般医療機関でも可能になった。以来、*mecA* を保有しているにも関わらず薬剤感受性試験でオキサシリン感性和判定される *S. aureus* (oxacillin-susceptible MRSA; OS-MRSA) が各国より報告されている^{2,5)~10)}。

今回我々は、OS-MRSA による菌血症の症例を経験した。本症例では、*mecA* 遺伝子検出が適切な抗菌薬の使用継続に貢献した。

症 例

患者: 89 歳, 女性

既往歴: 脊椎管狭窄症・脊椎後方固定術後 (10 年前)、脳梗塞、認知症、高血圧、糖尿病

現病歴: 発熱と一部に壊死を伴う大きな背部皮下腫瘍、および同部位の疼痛を主訴として当院整形外科を紹介受診した。来院時の体温は 38.7°C、血液検査所見は CRP が 22.4 mg/dL、白血球数が $19.94 \times 10^3/\mu\text{L}$ でその 92.7% が好中球であり、高度の炎症を認めた。造影 CT では 10 年前に施行された脊椎後方固定術のインプラント周囲に膿瘍が確認された (Fig. 1)。患者は即日入院となり、血液培養検体 2 セットと膿検体が採取され、外科的デブリードマンが施行された。膿検体の直接塗抹標本のグラム染色では集塊状のグラム陽性球菌が認められたため、MRSA やメチシリン耐性コアグララーゼ陰性 *Staphylococcus* (methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococcus*; MRCNS) を含むブドウ球菌感染症と推定された。ダブトマイシン 200 mg × 1/day による初期治療が開始されて、入院 5 日目までに解熱と疼痛の軽減が得られた。しかし、入院 14 日目頃から誤嚥性肺炎を併発し、呼吸不全のため入院 16 日目に永眠された。

微生物学的検査: 血液培養検体は BACT/ALERT VIRTUO (バイオメリュー・ジャパン) で培養し、2 セット全て

著者連絡先: (〒990-2292) 山形県山形市青柳 1800
山形県立中央病院検査部細菌検査室
鈴木 裕
TEL: 023-685-2626(内線 1316)
FAX: 023-685-2667
E-mail: suzukiyu1@ypch.gr.jp

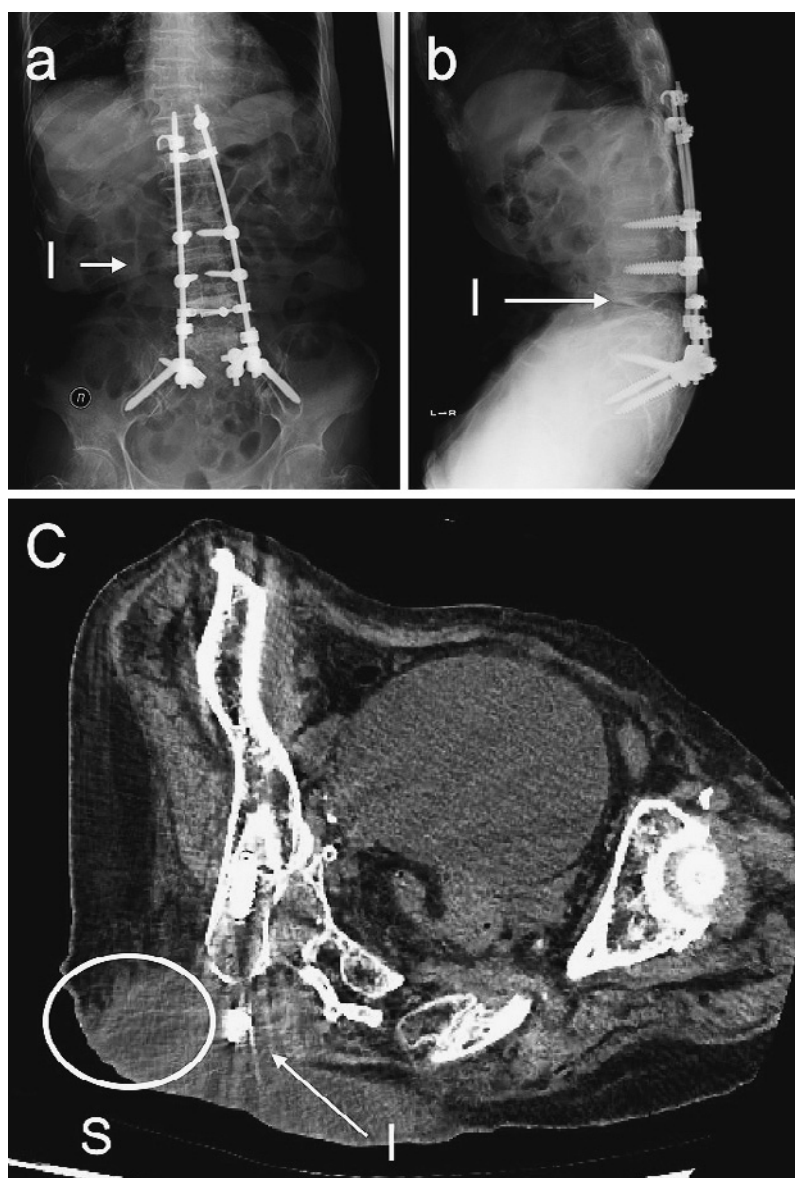


Figure 1. The radiological images of the patient

Supine X-ray images (a, b) and a cross-sectional image of supine contrast-enhanced CT (c) are shown. Massive subcutaneous abscess was detected around the implant for posterior spinal fusion.

I, the implant for posterior spinal fusion; S, subcutaneous abscess.

が最短16時間で陽性となった。培養液の直接塗抹標本のグラム染色では4本全てに集塊状のグラム陽性球菌を認めたため、MRSAの鑑別のためXpert MRSA/SA blood culture assay (セフィエド)により培養液から *mecA* 遺伝子検出および *S. aureus* 特異的遺伝子 *spa* の検出を試みた。その結果、*mecA*, *spa* 共に陽性であったことから、MRSAの可能性が高いと考えられる旨を臨床に報告した。培養液と膿検体を5%ヒツジ血液寒天培地(極東製薬)およびクロモアガーMRSAスクリーン培地(関東化学)に塗抹して36°Cで一晩培養したところ、ヒツジ血液寒天培地上にβ溶血を伴う円形集落が純培養状に発育し、MALDIバイオタイパー Ver.3.1 (プルカー・ジャパン)により *S. aureus* と同定された。しかし、これらの *S. aureus* はクロモアガーMRSAスクリー

ン培地に発育を認めず、MicroScan WalkAway と MicroScan Pos MIC 1J パネル (共にベックマン・コールター) を用いた微量液体希釈法による薬剤感受性試験ではオキサシリン、セフォキシチン共に感性和判定された (Table 1)。以上の結果より、*mecA* 陽性にも関わらず MSSA の表現型を示す OS-MRSA と考えられる旨を臨床に報告した。報告を受けて、感染症内科医は抗MRSA薬投与の継続を決定した。

この遺伝子型と表現型の矛盾の原因を明らかにするため、本症例の血液培養由来 *S. aureus* 菌株を米国セフィエド社に送り、精査を依頼した。精査の結果、*mecA* は陽性であり、PBP2a SA culture colony test (アレア) により PBP2a の保有も確認された。薬剤感受性は、MicroScan PM29 パネル (ベックマン・コールター) を用いた微量液体希釈法では当

Table 1. Antimicrobial susceptibility testing results of the oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain

Antibiotics	MIC (μg/mL)	Interpretation of breakpoint*
Oxacillin	1	Susceptible
Cefoxitin	≤4	Susceptible
Cefazolin	≤2	Susceptible
Cefmetazole	≤16	Susceptible
Ceftriaxone	≤4	Susceptible
Cefepime	4	Susceptible
Meropenem	≤1	Susceptible
Vancomycin	1	Susceptible
Teicoplanin	≤1	Susceptible
Arbekacin	≤1	Susceptible
Linezolid	2	Susceptible
Daptomycin	≤0.25	Susceptible
Minocycline	≤2	Susceptible
Erythromycin	>4	Resistance
Levofloxacin	>4	Resistance

*The breakpoints were interpreted according to the Clinical and Laboratory Standards Institute M100 30th Edition⁴⁾.

院の結果と同様にオキサシリン、セフォキシチン共に感性和判定された。しかしディスク拡散法では、オキサシリンは感性であった一方で、セフォキシチンに対しては耐性が確認された：30 μg セフォキシチン含有ディスク (Hardy Diagnostics) にて発育阻止円 21 mm 以下で耐性と判定されるところ⁴⁾¹¹⁾、本菌株の発育阻止円は 20 mm であり、感性に近い結果であったものの耐性と判定された。以上の結果から、本菌株はセフォキシチンのディスク拡散法のみで表現型の検出が可能な MRSA であったことが明らかとなった。

OS-MRSA は抗菌薬の暴露により MRSA としての薬剤耐性が誘導され得るとの報告がある^{12)~14)}。そこで、セフィエド社において、先行研究¹¹⁾¹²⁾の方法に則ったセフォキシチンディスクによる OS-MRSA の耐性誘導試験が試みられた。具体的には、1 度目のディスク拡散法によって形成された発育阻止円の辺縁部の集落を用いて 2 度目のディスク拡散法を行い、再び形成された発育阻止円の辺縁部の集落について、オキサシリン、セフォキシチンおよびその他の β ラクタムに対する感受性の変化が微量液体希釈法により評価された。しかし、本菌株の β ラクタムの MIC は耐性誘導試験後も上昇を認めなかった。

考 察

本症例で血液培養により分離された *S. aureus* は *mecA* 遺伝子検出と薬剤感受性検査の結果から OS-MRSA と考えられた。膿検体から分離された *S. aureus* は *mecA* の有無を確認していないため OS-MRSA であったかどうかは不明であったが、薬剤感受性は血液由来株と同様であったこと、および患者の大きな皮下膿瘍は菌の血液への進入門戸として十分であったことを併せると、本症例は OS-MRSA による皮下膿瘍から菌血症に進展した可能性が考えられた。CLSI ガイドラインでは、*mecA* が陽性の *S. aureus* は薬剤感受性

が MSSA であっても MRSA として報告するように記載されている⁴⁾。本症例は血液培養陽性時に *mecA* 陽性を確認できたことにより、後の薬剤感受性検査結果に依らず MRSA として治療を継続できた。本症例ではダプトマイシンの投与により臨床的に解熱と症状の改善が得られた。一方、Duarte ら¹⁵⁾の OS-MRSA による致死性敗血症の報告では、入院時の血液培養で *mecA* 陽性 *S. aureus* が検出されたためバンコマイシンを投与され症状の改善を認めたものの、その後の薬剤感受性結果が MSSA であったことから β ラクタム投与に変更され、以降症状の改善を認めず入院 10 日後に死亡に至ったとされる。また、Sharff ら¹⁶⁾の報告では、OS-MRSA による尿路感染を伴う菌血症を発症した 32 歳の患者に対して初期より抗 MRSA 薬を投与し、軽快している。以上を踏まえると、OS-MRSA 感染症の治療において抗 MRSA 薬の適切な使用が重要であることが示唆される。すなわち、本症例のように、適切な抗菌薬治療には *mecA* 遺伝子の早期検出による適切な診断が必要不可欠であると言える。先行する疫学研究によると、OS-MRSA は世界各国で報告されており、*S. aureus* 分離株のうち 0.62-33.7% を占めるとされる^{2)5)~10)}。しかしながら、我々の知る限り、OS-MRSA 感染症の症例報告は十分とは言えない^{14)~17)}。今後、症例報告の更なる蓄積により OS-MRSA の臨床的重要度が明らかになることが期待される。

微生物検査における遺伝子検査と薬剤感受性検査結果の矛盾は臨床現場に混乱をもたらす。OS-MRSA のような遺伝子型と表現型の不一致は、例えば MSSA の中に少数の MRSA や MRCNS が混在した場合にも起こり得る。よって、OS-MRSA を同定する際は対象菌株が単一菌であることを確認することが重要である。本症例では、継代培養で純培養であることを確認し、薬剤感受性試験は複数個のコロニーを使用して再現性を確認したことに加えて、本症例で使用した遺伝子検査装置で得られた Ct 値 (threshold cycle value) も参考になった。すなわち、*spa* の Ct 値 (17.6) と *mecA* の Ct 値 (17.9) に乖離を認めなかったことから、試料中に両遺伝子がほぼ同コピー数存在すると考えられた。Xpert MRSA/SA blood culture assay (セフィエド) では MRCNS を直接検出することはできないためあくまで補助的な情報ではあるが、*spa* と *mecA* の Ct 値に乖離を認めないことは、*mecA* 陽性の *S. aureus* が試料中に単一菌として存在している可能性を支持するものと考えられる。

OS-MRSA のセフォキシチン耐性率は用いる検査法により異なることが報告されている。Boonsiri¹⁸⁾らの微量液体希釈法による検討では OS-MRSA 43 株のうちセフォキシチン耐性と判定されたのは 19 株 (44.2%) に留まったのに対して、Gargis¹⁹⁾らのディスク拡散法による検討では 30 株中 28 株 (93.3%) がセフォキシチン耐性と判定された。実際、本症例で分離された OS-MRSA においても、MRSA としての表現型が確認されたのはディスク拡散法でのみだった。したがって、OS-MRSA を MRSA として同定するために、必要に応じて薬剤感受性試験にディスク拡散法によるセフォキシチン感受性の確認を追加することが有用と考えられる。また、Duarte ら¹⁵⁾の報告のように MSSA 感染症と思われても β ラクタムによる治療が奏功しない症例では、OS-MRSA の確認の

ために *mecA* 検出を積極的に実施することが有用と考えられる。さらに、Gargis ら¹⁹⁾の報告によれば、OS-MRSA 30 株中 29 株 (96.7%) が PBP2a を保有し、MRSA スクリーニング培地にも 30 株中 24 株 (80%) が発育している。よって、OS-MRSA の簡易検出法として PBP2a 検出ラテックス試薬や MRSA スクリーニング培地も有用と考えられる。

OS-MRSA は *in vitro* において抗菌薬暴露後に MRSA が高頻度に誘導されることが複数の先行研究で報告されている^{12)~14)20)}。また、OS-MRSA 感染症の治療経過中にナフシリン投与を契機として患者体内で MRSA が出現した症例も報告されている¹⁷⁾。抗菌薬暴露後に OS-MRSA から MRSA が誘導される原因として、*mecA* 塩基配列内の変異や塩基配列自体の不安定性が指摘されている¹⁵⁾¹⁸⁾。しかしながら、本症例の OS-MRSA 菌株はセフォキシチンによる耐性誘導試験後も微量液体希釈法における β ラクタム MIC の上昇を認めなかった。遺伝子解析等による菌株精査を行うことができなかったため詳細は不明であるが、本菌株は先行研究^{12)~20)}の OS-MRSA とは異なる性質を有しているのかもしれない。OS-MRSA から MRSA が誘導され得ることを踏まえて、CLSI ガイドライン⁴⁾では OS-MRSA は MRSA として報告するように記載されている。よって OS-MRSA 感染症は臨床的に MRSA 感染症として取り扱うべきであり、初期よりバンコマイシン、ダプトマイシンのような抗 MRSA 薬の使用を考慮する必要があると考えられる。

結論として、今回稀な OS-MRSA による菌血症の症例を経験したので報告した。*mecA* 遺伝子検出の一般医療機関への普及が進むにつれて OS-MRSA を疑う場面に遭遇する機会も増えていくことが予想される。OS-MRSA に対しては積極的に抗 MRSA 薬の使用を考慮する必要があることから、OS-MRSA を検出する臨床的意義は大きい。遺伝子検査により OS-MRSA を同定する際は他の *mecA* 陽性菌の混入がないことを十分に確認する必要がある、PSP2a 検出試薬や MRSA スクリーニング培地を併用することが有用であると考えられる。

謝辞：菌株の精査にご協力いただきました Isabella A. Tickler (セフィエド社)、Dr. Fred C. Tenover (セフィエド社)、および上野正貴様 (ベックマン・コールター株式会社) に深謝致します。

利益相反：申告すべき利益相反なし

文 献

- Lakhundi, S., K. Zhang. 2018. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. Clin. Microbiol. Rev 31: e00020-18.
- Liu, J.L., T.M. Li, N. Zhong, et al. 2020. Current status of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* infection in Shanghai, China: A multicenter study. J. Microbiol. Immunol. Infect S1684-1182: 30178-X.
- Hassoun, A., P.K. Linden, B. Friedman. 2017. Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations-a review of recent developments in MRSA management and treatment. Crit. Care 21: 211.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. CLSI supplement M100. In: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 30th ed, CLSI, Wayne, PA, USA.
- Hososaka, Y., H. Hanaki, H. Endo, et al. 2007. Characterization of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*: a new type of MRSA. J. Infect. Chemother 13: 79-86.
- Saeed, K., N. Ahmad, M. Dryden, et al. 2014. Oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA), a hidden resistant mechanism among clinically significant isolates in the Wessex region/UK. Infection 42: 843-847.
- Conceição, T., C. Coelho, H. de Lencastre, et al. 2015. Frequent occurrence of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) strains in two African countries. J Antimicrob Chemother 70: 3200-3204.
- Muzy Dias, A.P., L.C. Guimarães, L.B.D.V. Petrucci, et al. 2020. Prevalence of oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage and their clonal diversity among patients attending public health-care facilities. Indian J Med. Microbiol 38: 192-199.
- Andrade-Figueiredo, M., T.C. Leal-Balbino. 2016. Clonal diversity and epidemiological characteristics of *Staphylococcus aureus*: high prevalence of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) associated with clinical isolates in Brazil. BMC. Microbiol 16: 115.
- Sakoulas, G., H.S. Gold, L. Venkataraman, et al. 2001. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: comparison of susceptibility testing methods and analysis of *mecA*-positive susceptible strains. J. Clin. Microbiol 39: 3946-3951.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. CLSI standard M02. In: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 13th ed, CLSI, Wayne, PA, USA.
- Tenover, F.C., I.A. Tickler. 2015. Is That *Staphylococcus aureus* isolate really methicillin susceptible? Clin. Microbiol. Newsl 37: 79-84.
- Kampf, G., S. Adena, H. Rüden, et al. 2003. Inducibility and potential role of *MecA*-gene-positive oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from colonized healthcare workers as a source for nosocomial infections. J. Hosp. Infect 54: 124-129.
- Penn, C., C. Moddrell, I.A. Tickler, et al. 2013. Wound infections caused by inducible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. J. Glob. Antimicrob. Resist 1: 79-83.
- Duarte, F.C., T. Danelli, E.R. Tavares, et al. 2019. Fatal sepsis caused by *mecA*-positive oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus*: First report in a tertiary hospital of southern Brazil. J. Infect. Chemother 25: 293-297.
- Sharff, K.A., S. Monecke, S. Slaughter, et al. 2012. Genotypic resistance testing creates new treatment challenges: two cases of oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol 50: 4151-4153.
- Proulx, M.K., S.G. Palace, S. Gandra, et al. 2016. Reversion from methicillin susceptibility to methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* during treatment of bacteremia. J.

- Infect. Dis 213: 1041-1048.
- 18) Boonsiri, T., S. Watanabe, Tan X.E., et al. 2020. Identification and characterization of mutations responsible for the β -lactam resistance in oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*. Sci. Rep 10: 16907.
- 19) Gargis, A.S., B.B. Yoo, D.R. Lonsway, et al. 2020. Difficult-To-Detect *Staphylococcus aureus*: *mecA*-Positive Isolates Associated with Oxacillin and Cefoxitin False-Susceptible Results. J. Clin. Microbiol 58: e02038-19.
- 20) Goering, R.V., E.A. Swartzendruber, A.E. Obradovich, et al. 2019. Emergence of oxacillin resistance in stealth methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* due to *mecA* sequence instability. Antimicrob. Agents. Chemother 63: e00558-19.

A case of bacteremia due to oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA)

Yu Suzuki¹⁾, Daisuke Akaneya¹⁾, Yuka Yamaguchi¹⁾, Shintaro Nemoto²⁾, Shuichi Abe³⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Yamagata Prefectural Central Hospital

²⁾Department of Orthopedics, Yamagata Prefectural Central Hospital

³⁾Department of Infectious Disease, Yamagata Prefectural Central Hospital

Here we report a case of oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) bacteremia. A patient was 89-year-old woman who had undergone spinal fusion 10 years ago, and admitted to hospital due to subcutaneous abscess at surgical site. Gram positive cocci with clustered form were observed in smear of the abscess, thus she was administered daptomycin considering the possibility of infection with methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). *S. aureus* was isolated from blood culture sample and *mecA* detection assay revealed that the strain possessed *mecA*. However, antimicrobial susceptibility testing revealed that the strain was methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) phenotypically as it was susceptible to oxacillin. Therefore, this case was considered as OS-MRSA bacteremia. The patient was kept to be administered daptomycin and her fever resolved 5 days after the administration. It is known that MRSA could be induced by exposure to oxacillin or cefoxitin from OS-MRSA strain. Furthermore, Clinical and Laboratory Standards Institute recommends reporting OS-MRSA as MRSA to clinician. Hence, administration of anti-MRSA drug should be considered for OS-MRSA infection case. It should be required for proper detection of OS-MRSA to confirm no contamination of any other *mecA*-positive bacteria, such as *mecA*-positive coagulase-negative *Staphylococci*. PBS2a detection test or MRSA screening culture media would be useful for the detection of OS-MRSA.