

■Commentary

Staphylococcus 属の耐性菌の総称名や略称名について

奥住 捷子

獨協医科大学病院・感染制御センター

Nomenclature, accurate identification and methicillin resistance of *Staphylococcus* species

Katsuko Okuzumi

Division of Infection Control, Dokkyo Medical University Hospital

1. はじめに

Staphylococcus 属の耐性菌の総称名や略称名に MRSA、MRSE、MRCNS、MRS、HA-MRSA、CA-MRSA、VISA、h-VISA、VRSA などがある（表1）。また MRSA の対照として methicillin 感性菌の MSSA: methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* が使われる。本稿では、特に methicillin 耐性菌に焦点を当て若干の考察を加えたい。

2. MRSA の検出法

MRSA の検出法（表2）には、臨床細菌検査の分野で、①薬剤感受性を用いて、oxacillin など耐性を測定、あるいは、oxacillin 耐性の性質を利用して検出、②Penicillin Binding Protein 2 prime 「PBP2'（PBP2a）」を検出、③ *mecA* 遺伝子（PBP2'の産生を司る遺伝子）を検出するなど三つの方法がある。

表1 *Staphylococcus* 属の耐性菌の略称名等について

略称名	菌 種 名	判定基準等
MRSA	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> :メチシリン耐性黄色ブドウ球菌	MPIPC: $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ CFX: $\geq 8 \mu\text{g/ml}$
MRSE	methicillin-resistant <i>Staphylococcus epidermidis</i> :メチシリン耐性表皮ブドウ球菌	MPIPC: $\geq 0.5 \mu\text{g/ml}$
MRS	methicillin-resistant <i>Staphylococci</i> :メチシリン耐性ブドウ球菌 メチシリン耐性ブドウ球菌の総称名	<i>mecA</i> 遺伝子を有する(PBP2'を産生する)ブドウ球菌
HA-MRSA	Hospital-acquired MRSA: 病院感染型 MRSA 多剤耐性を獲得している	SCCmec I、II、IIIが多い。
CA-MRSA	Community-acquired MRSA: 市中感染型 MRSA、clindamycin、minocycline などの β -ラクタム薬以外の抗菌薬に感受性を示す。	SCCmec IV、Vが多い。
MRCNS	methicillin-resistant coagulase negative staphylococci :メチシリン耐性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌 coagulase 陰性の <i>Staphylococcus lugdunensis</i> の MPIPC のブレイクポイントが $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ となり、 <i>S. aureus</i> の MPIPC のブレイクポイント $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ と同じために、MRCNS という総称名は使われなくなっている	
VRSA	vancomycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> :バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌	VCM: $\geq 16 \mu\text{g/ml}$
VISA	vancomycin-intermediate <i>Staphylococcus aureus</i> :バンコマイシン中等度耐性黄色ブドウ球菌	VCM: $4 \sim 8 \mu\text{g/ml}$
h-VISA:	Hetero-resistant-VISA、: Hetero-resistant vancomycin-intermediate <i>Staphylococcus aureus</i> :ヘテロ耐性バンコマイシン中等度耐性黄色ブドウ球菌	VCM 感性株の中にごく少量の VISA が混在する <i>S. aureus</i>
MSSA	methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i> :メチシリン感性黄色ブドウ球菌 MRSA の対照名称として使われることがある	MPIPC: $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ 、CFX: $\leq 4 \mu\text{g/ml}$

表2 MRSA の検出法

検出法	測定法	使用薬剤	MRSA 判定基準
薬剤感受性試験法	ディスク拡散法	Oxacillin Cefoxitin	阻止円直径 $\leq 10\text{mm}$ 阻止円直径 $\leq 21\text{mm}$
	微量液体希釈法	Oxacillin Cefoxitin	MIC 値 $\geq 4\mu\text{g/ml}$ MIC 値 $\geq 8\mu\text{g/ml}$
	選択培地	Oxacillin	発育(+)
PBP2'検出法	ラテックス凝集法	市販試薬	凝集(+)
<i>mecA</i> 遺伝子検出法	PCR 法など	市販試薬	<i>mecA</i> (+)

- ① 薬剤感受性を用いる方法には、ディスク拡散法、微量液体希釈法などの日常検査に用いられている抗菌薬の感受性試験法の中で、oxacillin など耐性評価薬を測定する二方法と oxacillin 含有培地 (MRSA 選択培地) 上に試験菌の発育状況を観察する方法の3種類がある。MRSA 判定用薬剤は、当初 methicillin が使われていたが、薬剤の安定性から oxacillin が使用されるようになった。セファマイシン系薬の cefoxitin を用いる方法は、2004 年 NCCLS¹⁾より提唱された。cefoxitin を用いることで *mecA* 遺伝子保有であるにもかかわらず表現型で MSSA を示す株の PBP2'産生能を誘導し oxacillin 耐性を容易に検出できるとされた²⁾。
- ② PBP2' を検出する方法では、市販試薬を使い、被検菌株の *S. aureus* から抽出した PBP2' と、これに特異的に反応する抗 PBP2'抗体標識ラテックス粒子を混合し、凝集塊が認められれば MRSA と判定する。
- ③ *mecA* 遺伝子³⁾を検出する方法は、被検菌株の *S. aureus* から抽出した DNA を対象に、PCR 法などの各種核酸増幅法を用いて *mecA* 遺伝子を増幅し、電気泳動法で分離し、*mecA* 遺伝子の増幅バンドを検出する。

MRSA の決定にどのような方法を用いるかは各施設に委ねられていたが、*mecA* 遺伝子の検出、PBP2'産生性が、MRSA の判定における gold standard^{4)~5)}とされている。PBP2'産生性については、近年ラテックス凝集反応による検出キットが発売され手軽に検査できるようになった。

3. MRSA の定義

MRSA の決定方法は各施設に委ねられていたが 2010 年 1 月、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI :

2005 年 1 月に NCCLS から名称変更) 米国の臨床検査の標準法である CLSI M100-S20⁶⁾において感受性検査基準の改定が提示され、MRSA の定義が確立された。

改めて

MRSA とは、*mecA* 遺伝子の発現もしくは oxacillin に対する penicillin 結合蛋白 (PBP2a、PBP2') の親和性の変化による methicillin 耐性メカニズムを示す菌株 (Modified *S. aureus* 株) と定義され、MRSA=*mecA* 遺伝子を保持する *S. aureus* およびもしくは oxacillin の MIC $\geq 4\mu\text{g/ml}$ (表 3) とする。

4. MRS : methicillin-resistant Staphylococci の判断基準

表 3 は、*Staphylococcus aureus* と *Staphylococcus lugdunensis* の Oxacillin ブレークポイント (CLSIM100-S20 2010) を提示した。MRS : methicillin-resistant Staphylococci の判断基準は、*S. aureus* とコアグラゼ陰性の *S. lugdunensis* の oxacillin の MIC が $\geq 4\mu\text{g/ml}$ の株を methicillin-resistant とする。また、*S. lugdunensis* 以外の CNS の oxacillin の MIC が $\geq 0.5\mu\text{g/ml}$ の株を methicillin-resistant とするの 2 群に分けられた。

表3 *Staphylococcus aureus* と *Staphylococcus lugdunensis* の Oxacillin ブレークポイント (CLSIM100-S20 2010)

対応菌種	試験薬剤	ディスク法(mm)	MIC 法($\mu\text{g/ml}$)
<i>S. aureus</i> <i>S. lugdunensis</i>	1 μg Oxacillin	≥ 13 S 11-12 I ≤ 10 R	≤ 2 S ≥ 4 R
	1 μg Oxacillin	—	≤ 2 S ≥ 4 R
	30 μg Cefoxitin	≥ 22 S ≤ 21 R	≤ 4 S ≥ 8 R
<i>S. lugdunensis</i> 以外の CNS	1 μg Oxacillin	—	≤ 0.25 S ≥ 0.5 R
	30 μg Cefoxitin	≥ 25 S	—

Cefoxitin は Oxacillin 耐性を確認するための試験薬剤で、Cefoxitin の結果を用いて Oxacillin の結果として報告する。

5. *Staphylococcus lugdunensis* について

*Staphylococcus lugdunensis*⁷⁾ は、コアグラゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) に属している。皮膚の常在菌として知られ、生化学的性状が *S. aureus* と似ており (表 4)、誤同定されやすく近年注目されている菌種である。本菌の最初の報告は、1988 年に France National Reference Center for

表4 *Staphylococcus aureus* と *Staphylococcus lugdunensis* の生化学的性状の比較

	<i>S. aureus</i>	<i>S. lugdunensis</i>
カタラーゼ試験	+	+
コアグララーゼ試験(試験管法)	+	—
クラumping因子	+	+
オルニチン脱炭酸試験	—	+
D-マンニトール:酸産生	+	—
D-リボース:酸産生	+	—
耐熱性スクレアーゼ	+	—

Staphylococci に収集された血液、避妊器具、胸腔ドレナージ由来の *Staphylococcus* 11 株であった。研究所の所在地名リヨンのラテン名である「Lugdunum」にちなんでこの菌名が命名された。*S. lugdunensis* は、皮膚の常在菌であり、皮膚や軟部組織感染症から分離され、敗血症、髄膜炎、心内膜炎などの重篤な感染症の原因菌として報告されている。臨床細菌検査室で、本菌：*S. lugdunensis* と決定するには、詳細な観察で①*S. aureus* の集落と似ていること、②ウサギプラズマを用いた試験管法でコアグララーゼ試験が陰性であること、③オルニチン脱炭酸試験が陽性であること、d-マンニトールから酸を産生しないことで区別できる。*Staphylococcus* 属の同定作業の主要試験のコアグララーゼ試験だけで鑑別すると、CNS と報告してしまう可能性がある。MRSA の流行拡大が始まった1983 年頃から、*S. aureus* の同定法：試験管法のコアグララーゼ試験に変わる迅速診断法として種々開発検討されてきた^{8)~10)}。しかし MRSA の中に clumping factor や protein A の産生量や活性の低い株が報告され、偽陰性になる場合があった。その対応として *S. aureus* に対する特異抗体を用いるなど試薬の改良がなされてきた。それでも市販検査薬によっては MSSA にくらべ MRSA ではコアグララーゼ試験との相関が低くなる例もある。

6. 自動機器導入について

また、自動機器の導入や *Staphylococcus* 用キットにより、*Staphylococcus* 属の同定が容易に行われるようになった。が、ヒトから分離症例がまれな菌種などが検出された場合には、たとえ同定確率が高くても、ウサギプラズマを用いた試験管法でコアグララーゼ試験の再確認が求められる。表5は、自動化と迅速診断が進んだ2003 年 Manual of Clinical Microbiology 8th から、従来から行われてきた *Staphylococcus* 属の試験法の重要性を喚起するために抽出した一覧表である。今後は、さらに迅速性、低コストなどから質量分析などによる菌種の同定がす

表5 Staphylocoagulase, Clumping factor and Heat-stable nuclease (Manual of Clinical Microbiology 8th 2003)

	Staphylocoagulase	Clumping factor	Heat-stable nuclease
<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	+	+	+
<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>	+	-	+
<i>S. lugdunensis</i>	-	+	-
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	-	+	+
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	+	-	+
<i>S. lutrae</i>	+	-	(±)
<i>S. intermedius</i>	+	d	+
<i>S. dolphini</i>	+	-	-
<i>S. hyicus</i>	d	-	+
<i>S. sciuri</i> subsp. <i>rodentium</i>	-	+	-

められようとしている。新しい菌名に遭遇、ヒトから分離症例のない菌種名が検出された場合の検査室の対応についても、議論が必要になる。

7. HA-MRSA とは

臨床的に HA-MRSA とは入院後 48 時間以後に分離される MRSA のことで、感染のリスク因子は、①入院、あるいは手術、②長期療養施設への長期の入所、③透析、④カテーテル等の留置などである。50 歳以上の易感染者が感染を起こしやすい。分離検査材料は、喀痰や咽頭粘液、膿、血液などが多い。主な世界流行型の MRSA は New York/Japan (ST5/SCCmec II), Pediatric (ST5/SCCmec IV), Berlin (ST45/SCCmec IV), Iberian (ST247/SCCmec I A), Brazillian (ST239/SCCmec III), EMRSA-15 (ST22/SCCmec IV), EMRSA-16 (ST36/SCCmec II) の 7 クローンが知られている。

8. CA-MRSA とは

上記の HA-MRSA のリスク因子が該当しない患者から分離された MRSA と定義され、過去 1 年以内に入院歴のない外来患者から分離された MRSA を対象にする。入院患者の場合は、入院後 48 時間以内に分離された MRSA を対象にする。感染者の多くは小児から青年層で、皮膚接触によって感染する。感染リスクの高い環境は、①大学、学校、託児所、②陸軍、海軍、③レスリングなどの競技チーム、④刑務所、⑤男性同性愛者、⑥地域住民、⑦感染者のいる家庭、⑧薬物使用、⑨入れ墨、⑩災害避難民などである。

ST1 型と ST8 型：米国に特徴的クローンで、ST1 型は、1997 年～1999 年に発生した小児死亡例と関連。現在は ST8 型が主流

ST80 型：ヨーロッパに特異的クローンで、アルジェリアから由来

ST59 型：台湾で顕著

ST30 型：世界分布型で、日本、オセアニア、極東ロシア、中国(上海)、エジプトなどに分布

ST1 型と ST8 型：近年、カナダやヨーロッパで検出

Panton Valentine ロイコシジン (PVL) 毒素は陽性とされるが、米国では ST1 型で 20% 陰性、ST8 型で 33% が陰性である。わが国で分離された CA-MRSA では、PVL は陰性が多い。

9. MRSA の疫学調査：POT 法

MRSA の院内伝播を防止するには、サーベイランスが重要であり、感染源の特定や感染経路の究明には分子疫学解析法 (PFGE 法) が用いられてきた。が、本法は処理時間が長く煩雑なことから、日常業務への導入は困難であった。短時間で再現性良く測定可能な POT 法による分子疫学解析キットが、愛知県衛生研究所の鈴木匡弘氏らにより開発された。Phage Open Reading Frame Typing 法 (POT 法) に基づいた「シカジーニクス 分子疫学解析 POT キット (黄色ブドウ球菌用)」が関東化学から発売された。

このキットではマルチプレックス PCR を用いて、約 4 時間以内に分子疫学解析が可能、複数の特定遺伝子を同時に増幅し、アガロース電気泳動で分離・検出されたその増幅バンドのパターンを解析、結果を数値化することで、病原体間の関係性を比較できる。数値化で MRSA クローンを簡便に同定することが可能となった。

10. おわりに

Staphylococcus 属の耐性菌の総称名や略称名について概説した。臨床細菌検査の現場では、毎年のように変更になる CLSI の文書、ブレイクポイントの変更などに翻弄されているといっても過言ではない。院内の IT 化もめまぐるしく、検査システムの変更、診療システムの点検など多忙であるのは事実ではあるが、変更にあたっては、利用者：医師、看護師、特に感染症専門医、ICN、薬剤師など感染制御関係者とも十分な意見交換をしたうえで変更されるようお願いしたい。

文 献

- 1) National Committee for Clinical Laboratory Standards : Performance standards for antimicrobial susceptibility testing : fourteenth informational supplement, M100-S14. NNCLS. Wayne, P.A., 2004
- 2) Felten A, Grandry B, Lagrange P H, et al: Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. J Clin Microbiol 40:2766-2771, 2002
- 3) Ubukata K, Noguchi R, Matsuhashi M, et al: Expression and inducibility in *Staphylococcus aureus* of the *mecA* gene, which encodes a methicillin-resistant *S. aureus*-specific penicillin-binding protein. J Bacteriol 171:2882-2885, 1989
- 4) Louie L, Matsumura S O, Choi E, et al: Evaluation of tree rapid methods for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 38:2170-2173, 2000
- 5) Sakoulas G, Gold H S, Venkataraman L, et al: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: comparison of susceptibility testing methods and analysis of *mecA*-positive susceptible strains. J Clin Microbiol 39:3946-3951, 2001
- 6) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing : fourteenth informational supplement, M100-S20. CLSI. Wayne, P. A., 2010
- 7) Schnizler N, Meilicke R, Conrads G, et al: *Staphylococcus lugdunensis* : Report of a Case of Peritonitis and an Easy-To-Perform Screening Strategy. J Clin Microbiol 36:812-813, 1998
- 8) Aldrige K.F., C.Kongo, C.V.Sanders et al: Comparison of rapid identification assays for *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, 19: 703-704, 1984
- 9) Berke, A. and R.C.Tilon: Evaluation of rapid coagulase methods for the identification of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, 23: 916-919, 1986
- 10) Ruane, P.I., M.A.Morgan, D.M.Citron, and M.E.Mulligan: Failure of rapid agglutination methods to detect oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, 24: 490-492, 1986