

「セラチア菌の分離および薬剤感受性に関する調査報告」

総合報告書

【調査目的】

耐性菌には MRSA や多剤耐性緑膿菌などは以前からよく知られているが、近年では新たにメタローβ-ラクタマーゼ産生グラム陰性菌、基質拡張型βラクタマーゼ (ESBL) 産生グラム陰性菌、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌などが出現し、その詳細な実態については未だわからない状況にある。

滋賀県では毎年 1 種類の耐性菌についてのサーベイランスを行い各医療施設にデータを還元することにより、有効な院内感染防止対策について支援することを目的としている。今回は「セラチア菌の分離および薬剤感受性に関する調査」を実施した。

【調査方法】

- 1) 調査対象耐性菌：セラチア菌 (*Serratia marcescens*)。
- 2) 調査期間：平成 20 年 9 月 1 日から 11 月 30 日までの 3 ヶ月間。
- 3) 菌株収集方法：臨床検査材料から分離・同定されたセラチア菌 (*Serratia marcescens*) すべての菌株をカジトン培地に保存した。1 患者について同一部位から複数回分離された場合は 1 菌種につき 1 株を収集した。調査期間終了後、菌株を滋賀県立成人病センター 臨床検査部 微生物検査室へ送付願った。
- 4) 試験・検査の内容：
 - ① CLSI による薬剤感受性検査
CLSI (Clinical and Laboratory Institute) Document M100-S18 に従い、ディスク拡散法により、CAZ (セフトジジム)、CTX (セフォタキシム)、CFPM(セフェピム)、IPM(イミペネム)、AMK (アミカシン) および CPFX (シプロフロキサシン) の抗菌薬について薬剤感受性検査を実施した。
 - ② SMA ディスク法および PCR 法によるメタローβ-ラクタマーゼの検出。
CAZ に耐性を示した菌株を対象に実施した。なお、今回収集された菌株はすべて CAZ 感受性であったため、メタローβ-ラクタマーゼの検出は行わなかった。
 - ③ RAPD 法による分子疫学的解析
Random amplification of polymorphic DNA(RAPD)によって菌種間の遺伝子レベルの相同性を比較検討した。使用プライマーは HTWL-74 (5'-CGTCTATGCA-3') および 1254 (5'-AACCCACGCC-3') を用いた。キアゲン DNA ミニキットで DNA を抽出後、PCR 試薬を用いて行った。PCR 反応後の産物を 2%アガロースゲル電気泳動で確認した。

【成績】

1) 参加医療施設

滋賀県の医療施設 61 施設のうち、サーベイランスに参加したのは 28 施設であった。病床別の参加施設数は 199 床以下が 16 施設、200～499 床が 7 施設、500 床以上が 5 施設であった。

表 1. 参加状況

病床数	1～199	201～499	500～	全体
対象該当施設数	37	17	7	61
参加希望施設数	16	7	5	28
参加施設数	16	7	5	28
(%)	43.2	41.2	71.4	45.9

2) セラチア菌分離結果 (入院・外来別、検査材料別および診療科別)

セラチア菌は入院由来 96 株、外来由来 33 株、不明 1 株の合計 130 株が収集された。施設規模別にみるとどの規模の施設であっても入院由来が多い結果となったが、特に 1～199 床の施設が入院の占める率が高い成績 (39 株中 35 株;89.7%) であった。

表 2. 入院・外来別分離結果

施設規模(病床数)	入院	外来	不明	合計
1～199(n=16)	35	3	1	39
200～499(n=7)	28	11	0	39
500～(n=5)	33	19	0	52
合計	96	33	1	130

検査材料別では、呼吸器系材料 (主に喀痰) が最も多く 81 株、次いで泌尿器系材料 (主に尿) の 29 株であった。500 床以上の施設では泌尿器系材料の比率が他の施設規模と比較してやや高い成績となった。血液からは 500 床以上の施設で 2 株検出された。

表 3. 検査材料別分離結果

施設規模	呼吸器系	泌尿器系	消化器系	血液	その他	合計
1～199(n=16)	30	3	1	0	5	39
200～499(n=7)	24	8	1	0	6	39
500～(n=5)	27	18	0	2	5	52
合計	81	29	2	2	16	130

診療科別では、内科系が 37 株、外科系が 46 株となり、やや外科系で多い成績となった。一方、1~199 床の施設では不明が 21 株も認められ、残念な結果となった。

表 4. 診療科別分離結果

施設規模	内科系	外科系	その他	不明	合計
1~199(n=16)	5	6	7	21	39
200~499(n=7)	15	16	1	7	39
500~(n=5)	17	24	6	5	52
合計	37	46	14	33	130

3) 薬剤感受性成績

薬剤感受性は耐性または中間の株を耐性株として集計した。130 株中 CPFY で 35 株 (26.9%)、CTX で 28 株 (21.5%) が耐性となったが、他の抗菌薬はすべて感受性であった。

表 5. 薬剤感受性成績 (n=130)

	抗菌薬					
	CAZ	CTX	CFPM	IPM	AMK	CPFY
耐性株数	0	28	0	0	0	35
(%)	(0)	(21.5)	(0)	(0)	(0)	(26.9)

4) 多剤耐性菌検出状況

1 剤のみ耐性は 17 株 (13.1%)、2 剤耐性は 23 株 (17.7%) であり、3 剤以上耐性は認めなかった。2 剤耐性の抗菌薬はすべて CTX と CPFY の組み合わせであった。なお、CAZ はすべて感受性であったためメタロ-β-ラクタマーゼ (MBL) は認めなかった。

表 6. 多剤耐性菌の内訳 (n=130)

	1 剤耐性	2 剤耐性	3 剤以上耐性	MBL
株数	17	23	0	0
(%)	(13.1)	(17.7)	(0)	(0)

5) 施設規模 (病床数) 別成績

薬剤感受性成績では CTX および CPFY とも施設規模が大きくなるにつれて耐性株数が多い成績となった。多剤耐性菌では 2 剤耐性株数が施設規模が大きくなるにつれて多い成績となった。特に 500 床以上の施設では 52 株中 18 株 (34.6%) が 2 剤耐性となった。なお、施設規模別に 100 床あたりの検体数は 500 床以上の施

設が他の規模の 2~3 倍の検体数であった。従って、分離率は 1~199 床が最も高く、500 床以上が最も低い成績となった。

表 7. 施設規模別の薬剤感受性成績

施設規模(病床数)		1~199	200~499	500~	合計
施設数		16	7	5	28
検体数(3ヶ月間)		2,887	4,440	11,301	18,628
検体数/100床あたり		134	184	356	241
対象株数		39	39	52	130
分離率(対象株数/検体数×100)		1.4	0.9	0.5	0.7
薬剤感受性	CTX 耐性株数	2	4	22	28
	(%)	(5.1)	(10.2)	(42.3)	(21.5)
	CPFX 耐性株数	7	8	20	35
	(%)	(17.9)	(20.5)	(38.5)	(26.9)
多剤耐性菌	1 剤耐性株数	7	4	6	17
	(%)	(17.9)	(10.3)	(11.5)	(13.1)
	2 剤耐性株数	1	4	18	23
	(%)	(2.6)	(10.3)	(34.6)	(17.7)
	3 剤耐性株数	0	0	0	0
	(%)	(0)	(0)	(0)	(0)
	MBL	0	0	0	0
(%)	(0)	(0)	(0)	(0)	

8) 分子疫学的解析結果

セラチア菌 130 株のうち、7 株以上分離された 8 施設を対象に分子疫学的解析を行った。検討した 88 株の RAPD は 61 パターンに分類された。同一パターンを示した施設の成績を表 8 に示した。8 施設中 6 施設が同一パターンを示した株を認めたが、1 施設を除き同一パターンであったのは 2~6 株あった。6 株が同一パターンであった施設 No.3 は、薬剤感受性パターンがすべて感受性と CTX のみが耐性に分かれた。施設 No.24 は検討した 19 株のうち 14 株が同一であり、さらに薬剤感受性パターンもすべての株で CTX および CPFX が耐性であった。14 株のうち 11 株が入院で 8 つの病棟から分離されていた。なお、施設間で同一パターンを示した株は認めなかった。

表 8. RAPD が同一パターンを示したセラチア菌の施設別成績

施設 No.	RAPD type	薬剤耐性パターン	所属* (株数)
1	9	すべて感受性	A (2)
2	14	すべて感受性	B (3)
	16	すべて感受性	C (2)
3	19	すべて感受性	外来 泌尿器 (4)
	19	CTX	D (2)
6	28	すべて感受性	E (1), F (1)
16	43	CTX, CPFY	G (1), 外来 泌尿器 (1)
24	56	CTX, CPFY	H (1), I (2), J (1), K (1), L (1), M (3), N (1), O (1), 外来 (3)

*所属；実際の所属名ではなく、記号で示した。

【まとめ】今回、滋賀県において動向が不明確であったセラチア菌の調査を行ったところ、61 施設中 28 施設の参加があり、130 株が分離された。総検体数は 18,628 件であり、100 床あたりの検体数は 241 件であった。分離率は 0～12.5%（平均 0.7%）であり、同一患者で複数回分離されることも考慮すると各施設で 1%強分離されると思われる。今回、施設規模が小さい施設の分離率が高くなっており、分離株数が少なくても、同一時期に複数患者分離された場合には院内感染に警戒する必要がある。

また、同じクローンのセラチア菌が同じ病棟、さらには病棟を越えて拡散していたと考えられる施設を認めた。2 株では同じ患者のこともある可能性があるので 3 株以上を有意とすると、3 施設に施設内での拡散を認めた。特に 1 施設は 19 株中 14 株が同一パターンであり、さらに薬剤感受性パターンも同一であった。施設内で蔓延していると思われるが、どの時期から蔓延していたかは不明である。可能であれば原因を究明し、分離数を減らす努力が必要である。

セラチア菌は時にはメタローβ-ラクタマーゼを産生する株が存在し、これが多剤耐性化する原因となることが知られているが、今回は検出されなかった。多剤耐性化という視点では各施設において十分に制御されていると考えられる。

滋賀県感染制御ネットワークでは、現在まで ESBL 産生グラム陰性桿菌、多剤耐性緑膿菌（MDRP）、セラチア菌のサーベイランスを実施し、耐性菌を含む微生物の医療関連感染の制御と監視を行ってきた。しかし、問題となる微生物はバンコマイシン耐性腸球菌、クロストリジウム・ディフィシルなど、滋賀県においては今なお不明である微生物も多い。今後も耐性菌を含む多くの微生物の伝播の予防と制御はすべての医療施設および滋賀県全体で責任を持つ必要があると考えており、今後のネットワークにおける活動が各施設の院内感染防止への一助になれば幸いである。

調査担当者

西尾 久明（滋賀県立成人病センター 臨床検査部 微生物検査室）

末吉 範行（社会保険滋賀病院 検査部 微生物検査室）

報告責任者

井上 徹也（社会保険滋賀病院 血液内科）

セラチア菌についての基礎知識

1) セラチア菌とは

セラチア菌は大腸菌や肺炎桿菌などに近い腸内細菌科に属するグラム陰性桿菌で、現在までに 8 菌種が知られている。かつては赤色素（プロジキオン）を産生することが特徴づけられていたが、近年ではほとんどが非色素産生株で占められている。

臨床検査材料から最も多く分離されるのは、約 90%が *Serratia marcescens* であり、次いで *Serratia liquefaciens* が分離される。水や土壌などの自然界に広く分布しており、病院だけでなく一般家庭の洗面台などの湿潤な環境に存在する。人の消化管に定着することは少なく、気道や尿路に定着する機会が多いことから、臨床材料では呼吸器系や泌尿器系からの分離が多い。

2) セラチア感染症の臨床的意義

弱毒菌であるため、健康な人では口から入っても肺炎、敗血症などの疾患を引き起こすことは極めてまれである。問題となるのは、手術後や重篤な疾患が原因で免疫能の減弱した患者さんに対して日和見感染を起こす。代表的な感染症は、肺炎、尿路感染症、敗血症、心内膜炎、手術部位感染（軟部組織感染）、関節炎、髄膜炎などである。時には、セラチアが産生するエンドトキシンにより血圧が急激に下がりショック状態となり、その結果、肝臓や腎臓の機能が障害され多臓器不全の状態に陥ると、死亡する場合もある。

3) 感染経路

- (1) 内因性感染：癌の末期や極度の免疫不全状態などの際に、腸管のバリア機能が低下し、細菌が血液中に侵入することにより、菌血症や敗血症を引き起こす。
- (2) 外因性感染：いわゆる手指などを介した接触感染により、肺炎や手術創感染を起こす。特に問題となるのは、セラチア菌に汚染された注射剤や輸液ルートが原因で、血液中に細菌が人為的に送り込まれる場合である。

4) 薬剤感受性

一般的にペニシリン（アンピシリンなど）や第一世代セフェム系薬（セファゾリンなど）では通常耐性を示し、第三世代セフェム系薬（セフトジジムなど）、オキサセフェム系薬、カルバペネム系薬には感受性を示す。耐性機構としては AmpC- β -ラクタマーゼ産生株では第三世代セフェム系薬が最初の治療時では感受性であっても、使用中に耐性となる場合がある。さらに、メタロー β -ラクタマーゼ産生株ではモノバクタム系（アズトレオナム）を除くすべての β -ラクタム薬に耐性を示すことが知られている。

5) 診断

入院後 48 時間以降に発熱を呈する患者さんは、発熱の原因として院内感染を鑑別する必要がある。必要な検査は末梢血の白血球数とその分画、血液培養 2 セット。必要に応じて胸部 X 線、尿検査、尿培養、喀痰培養などを実施する。感染症以外で発熱を生じる疾患（薬アレルギー、悪性疾患など）の鑑別も必要である。