

## 【原著・基礎】

臨床材料より分離された *Serratia marcescens* の細菌学的検討

## —第1報 検出状況と血清型分布—

三澤 成毅<sup>1)</sup>・小栗 豊子<sup>1)</sup>・猪狩 淳<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 順天堂大学附属病院臨床検査部<sup>2)</sup> 順天堂大学医学部臨床病理

(平成10年8月25日受付・平成10年10月8日受理)

1991年～1995年の5年間に、各種臨床材料より分離した *Serratia marcescens* 550株の由来材料と血清型を検討した。収集株の由来材料は喀痰、咽頭粘液など呼吸器系由来がもっとも多く、全体の過半数を占め、尿由来や膿・分泌物由来がこれに次いでいた。膿・分泌物では皮膚および創部膿、ドレーンから多く分離されていた。また、血液、血管カテーテル由来は少数(5%以下)であった。血清型別は16種類の抗血清を用いた。主要な血清型(O抗原)はO5型(13.3%)、O4型(10.5%)および混合型(17.0%)であり、他施設の傾向とは異なっていた。なお、O1とO11型は認められなかった。材料別にみた血清型は、O4型とO5型は呼吸器由来株に多かった。一方、混合型の多くはO12/O14であり、特に1992年と1993年分離の尿由来株に多かった。型別不能株の頻度は5年間全体では19.6%であり、最近やや増加の傾向であった。当院における過去の成績との比較では、血清型の分布に相違が認められていた。すなわち、O4型は現在でも主要な血清型であったが、過去に多かったO14型は最近では減少、O5型および混合型(O12/O14)が増加していた。

**Key words:** *Serratia marcescens*, opportunistic infection, O-serotype, O12/O14 complex, epidemiological marker

*Serratia marcescens* は腸内細菌科 (*Family Enterobacteriaceae*) に属する菌種であり、元来自然界に広く分布している。*S. marcescens* はヒトに対してはいわゆる弱毒菌とされ、日和見感染症原因菌の代表的な1菌種である<sup>1)2)</sup>。日和見感染症が増加してきた1960年代後半から1970年代には、臨床材料からの分離頻度が比較的高く、しかも *Enterobacter* 属と共に高度かつ多剤耐性菌の占める割合が高かった<sup>3)</sup>。1980年代に入り、第3世代セフェム系薬の登場とその使用が増加すると、これら多剤耐性グラム陰性桿菌の分離頻度は減少した。しかし、最近になってカルバペネムを加水分解するβ-ラクタマーゼ(メタロ-β-ラクタマーゼ)が *S. marcescens* からも見出され<sup>4)</sup>、グラム陰性桿菌の多剤耐性化が再び危惧されるようになった。

われわれは1970年代後半より *S. marcescens* に注目、その動向を調査、報告<sup>4)6)</sup>してきた。そこで、今回は近年(1991年以降)の分離株について、その検出状況と血清型を検討した。

## I. 材料と方法

## 1. 使用菌株

使用菌株は、1991年～1995年の5年間に当院検査部に提出された各種臨床材料からの分離株、合計550

株を用いた。分離株の年次別内訳は、1991年(137株)、1992年(174株)、1993年(86株)、1994年(52株)、1995年(101株)である。同一患者、同一材料由来の株は原則、可及的に除いたが、複数回の分離例で分離時期の間隔が1か月以上あるものはそれぞれ別として扱い、検討に含めた。

## 2. 血清型別

*S. marcescens* の血清型別は「セラチアO群別用免疫血清」(デンカ生検)によった。型別の手順は添付の説明書におおむね従った。判定は管底にボタン状に小さく沈澱している場合には陰性、一方顆粒状の凝集塊や膜状に沈澱した凝集が認められた場合には陽性とし、当該抗血清の血清型とした。なお、凝集が単独でなく複数の抗血清で認められた場合には混合型とし、いずれの抗血清にも凝集が認められなかった場合には型別不能とした。なお、混合型および型別不能株の一部は「デンカ生検株式会社、生物試薬製造部」に菌株を送付し、再検査(吸収血清による型別)を行った。

## II. 結果

## 1. 由来材料

5年間に収集された *S. marcescens* 550株の由来材料

を Table 1 に示した 由来材料でもっとも多かったのは喀痰であり、これに咽頭粘液を含めると 5 年間全体で 51.7 % に達していた。次いで多かったのは尿由来 (26.2 %) であり、膿・分泌物由来 (17.5 %) がこれに続いていた。膿 分泌物では皮膚および創部膿、腹腔ドレーンなどから多く分離されていた。血液 (血管カテーテルを含む) および胆汁からの分離は低い頻度であり、それぞれ 3.3 %, 1.5 % であった。また、年次的には由来材料の内訳に大きな変化は認められなかった。

## 2. 血清型

収集株の血清型の年次推移を Table 2 に示した。混合型および型別不能を除いて 5 年間を通じて優位であった血清型は、O5 型 (13.3 %) であり、O4 型 (10.5 %) がこれに次いでいた。なお、今回の検討では O1 型と O11 型は認められなかった。一方、混合型は全体で

17.0 % を占めており、そのうち約 80 % は O12 型との混合型であった。O12 型との混合型でもっとも多かったのは、O12/O14 であり、他に O12/O13, O12/O13/O14 も少数認められた。O12 型との混合型以外には O1/O2, O4/O6, O5/O14, O6/O8, O13/O14 が認められていた。また、型別不能株の頻度は 5 年間全体で 19.6 % であった。1991 年～1993 年までは 10 % 台であったが、1994 年と 1995 年分離株ではそれぞれ 34.6 %, 26.7 % と高頻度であり、近年ではやや増加の傾向であった。

主要な血清型であった O5 型、O4 型および O12 型との混合型の年次的な推移をみると、O5 型は 1991 年と 1992 年で優位であったが、1993 年と 1994 年ではいったん減少、1995 年に再び増加していた。O4 型は 1991 年～1993 年で多かったが、その後は減少傾向であった。O12 型との混合型は 1992 年に急増、1993 年

Table 1. Sources of specimen of *Serratia marcescens* at Juntendo university hospital from 1991 to 1995

Year	No. of strains	No. (%) of the following specimens:											
		sputum	(%)	throat swab	(%)	urine	(%)	blood <sup>a</sup>	(%)	bile	(%)	pus/discharge <sup>b</sup>	(%)
1991	137	62	(45.3)	10	(7.3)	36	(26.3)	3	(2.2)	4	(2.9)	22	(16.1)
1992	174	87	(50.0)	4	(2.3)	51	(29.3)	4	(2.3)	1	(0.6)	27	(15.5)
1993	86	37	(43.0)			22	(25.6)	5	(5.8)	1	(1.2)	21	(24.4)
1994	52	26	(50.0)			16	(30.8)	2	(3.8)	1	(1.9)	7	(13.5)
1995	101	53	(52.5)	5	(5.0)	19	(18.8)	4	(4.0)	1	(1.0)	19	(18.8)
Total	550	265	(48.2)	19	(3.5)	144	(26.2)	18	(3.3)	8	(1.5)	96	(17.5)

<sup>a</sup> Include 2 isolates from intravenous indwelling catheters.

<sup>b</sup> Mainly isolated from the skin, wound sites and surgical drainages.

Table 2. Annual changes of O-serotype distribution of *Serratia marcescens* from clinical specimens

Year	No. of strains	O-serotype (%)																		
		O1	O2	O3	O4	O5	O6	O7	O8	O9	O10	O11	O12	O13	O14	O16	O17	O12 complex <sup>a</sup>	other complex <sup>c</sup>	NT
1991	137		6 (4.4)	7 (5.1)	20 (14.6)	24 (17.5)	8 (5.8)		6 (4.4)	4 (2.9)	2 (1.5)		7 (5.1)	11 (8.0)	3 (2.2)	1 (0.7)	1 (0.7)	8 (5.8)	4 (2.9)	25 (18.2)
1992	174		2 (1.1)	8 (4.6)	19 (10.9)	28 (16.1)	2 (1.1)		9 (5.2)		7 (4.0)		8 (4.6)	4 (2.3)	1 (0.6)	7 (4.0)	5 (2.9)	47 (27.0)	2 (1.1)	25 (14.4)
1993	86		4 (4.7)	5 (5.8)	10 (11.6)	6 (7.0)	4 (4.7)		10 (11.6)		3 (3.5)		2 (2.3)	1 (1.2)	6 (7.0)	1 (1.2)	16 (18.6)	5 (5.8)	13 (15.1)	
1994	52		5 (9.6)	2 (3.8)	4 (7.7)	2 (3.8)	6 (11.5)						4 (7.7)	2 (3.8)	1 (1.9)		3 (5.8)	2 (3.8)	3 (5.8)	18 (34.6)
1995	101		6 (5.9)	4 (4.0)	5 (5.0)	13 (12.9)	16 (15.8)	3 (3.0)	6 (5.9)		1 (1.0)		1 (1.0)	9 (8.9)		1 (1.0)	3 (3.0)	1 (1.0)	5 (5.0)	27 (26.7)
Total	550	0 (0)	23 (4.2)	26 (4.7)	58 (10.5)	73 (13.3)	36 (6.5)	3 (0.6)	31 (5.6)	4 (0.7)	13 (2.4)	0 (0)	20 (3.6)	28 (5.1)	6 (1.1)	15 (2.7)	13 (2.4)	74 (13.5)	19 (3.5)	108 (19.6)

<sup>a</sup> Includes O12/O13, O12/O13/O14 and O12/O14.

<sup>b</sup> Includes O1/O2, O4/O6, O5/O14, O6/O8 and O13/O14.

<sup>c</sup> Non-typable.

Table 3. *Serratia marcescens* O-serotypes by specimen sources

Specimen	No. of strains	O-serotype (%)																		
		O1	O2	O3	O4	O5	O6	O7	O8	O9	O10	O11	O12	O13	O14	O16	O17	O12 complex <sup>a</sup>	other complex <sup>a</sup>	NT
Sputum	265		10 (3.8)	12 (4.5)	37 (14.0)	50 (18.9)	17 (6.4)	1 (0.4)	19 (7.2)	1 (0.4)	7 (2.6)		13 (4.9)	6 (2.3)	2 (0.8)	9 (3.4)	6 (2.3)	20 (7.5)	10 (3.8)	45 (17.0)
Throat swab	19			1 (5.3)	5 (26.3)	3 (15.8)	2 (10.5)													8 (42.1)
Urine	144		8 (5.6)	9 (6.3)	7 (4.9)	7 (4.9)	7 (4.9)		1 (0.7)	3 (2.1)	2 (1.4)		3 (2.1)	19 (13.2)	3 (2.1)	3 (2.1)	5 (3.5)	42 (29.2)	4 (2.8)	21 (14.6)
Blood <sup>b</sup>	18		3 (16.7)		1 (5.6)	1 (5.6)	1 (5.6)		2 (11.1)					2 (11.1)		2 (11.1)		2 (11.1)	1 (5.6)	3 (16.7)
Bile	8				1 (12.5)		2 (25.0)				1 (12.5)						1 (12.5)	1 (12.5)		2 (25.0)
Pus/discharge <sup>c</sup>	96		2 (2.1)	4 (4.2)	7 (7.3)	12 (12.5)	7 (7.3)	2 (2.1)	9 (9.4)		3 (3.1)		4 (4.2)	1 (1.0)	1 (1.0)	1 (1.0)	1 (1.0)	9 (9.4)	4 (4.2)	29 (30.2)
Total	550	0 (0)	23 (4.2)	26 (4.7)	58 (10.5)	73 (13.3)	36 (6.5)	3 (0.5)	31 (5.6)	4 (0.7)	13 (2.4)	0 (0)	20 (3.6)	28 (5.1)	6 (1.1)	15 (2.7)	13 (2.4)	74 (13.5)	19 (3.5)	108 (19.6)

<sup>a</sup> Include 2 isolates from intravenous indwelling catheters.

<sup>b</sup> Mainly isolated from the skin, wound sites and surgical drainages.

まで最優位であったが、1994年以降はほとんどみられなくなった。

### 3. 由来材料別にみた血清型の分布

収集株の血清型を由来材料別に集計し、Table 3に示した。由来材料として過半数を占めていた喀痰、咽頭粘液では、優位菌型であったO4型(14.0%~26.3%)とO5型(15.8%~18.9%)が多くを占めていた。一方、尿由来株ではさきの2種が占める割合は低く、代わってO12型との混合型の占める頻度ももっとも高く(29.2%)、次いでO13型(13.2%)が多かった。また、血液由来株ではO2型が、胆汁由来株ではO6型が比較的多かった。膿・分泌物由来株は全体の平均とその傾向が類似していた。なお、型別不能株は咽頭粘液由来株で42.1%と高頻度であり、その他に胆汁(25.0%)と膿・分泌物(30.2%)由来株で全体の平均を上回っていた。

## III. 考 察

わが国における臨床材料由来 *S. marcescens* 血清型の調査は、本菌の分離頻度が高かった1970年代から1980年代にかけて行われたもの<sup>6-11)</sup>が多い。これらの中で臨床材料全般にわたって優位であった血清型はO3型、O4型、O5型、O10型、O13型などが報告され、血清型分布は施設ごとかなりの差が認められている。今回の1990年代分離株を用いた検討では、優位な血清型は年によってそれぞれの占める割合には差があるものの、O4型、O5型、O12型との混合型であった。1980年代(1981~1983年)の当院分離株の成績<sup>6)</sup>と比較すると、O4型は共通して優位であったが、過去に

もっとも多かったのはO14型であり、O5型およびO12型との混合型は少数であった。このように同一施設であっても血清型分布が経年的に変化することは、丸茂らによる長期にわたる調査<sup>12-15)</sup>でも報告されている。

また、今回の検討では混合型や型別不能株の占める割合が比較的高かった。混合型についてはこれまでに種々の組み合わせ<sup>16)</sup>が知られている。今回の検討で多かったO12/O14は、欧米<sup>16)</sup>やわが国<sup>7,9-12,14,15)</sup>の報告でも比較的多く認められている型であった。抗O14型血清は他の血清型菌株(O1型、O6型、O12型)との交差反応が指摘されているが、O12型とO14型の抗原性はたがいにきわめて類似していることがその理由の1つと考えられている<sup>17,18)</sup>。しかしながら、今回の検討でのO12/O14型菌株はその後の吸収血清を用いた再検討によってO12型、O14型のいずれでもなく、他の血清型である可能性が示唆された。一方、型別不能株の頻度は今回の検討では14~35%であり、近年やや増加の傾向がうかがわれた。これはわが国における他の報告や、特に欧米における報告<sup>16)</sup>に比して高いものであった。*S. marcescens*のO抗原による血清型は、現在O28型<sup>19)</sup>までが知られている。わが国では16種類(O15型を除くO17型まで)のみが検査可能であり、これ以外の抗血清は入手困難である。さきのO12/O14を含め、今回の型別不能株の中には新しい血清型が含まれている可能性があると思われた。なお、混合型の中にはO12/O13/O14が少数含まれていたが、これはLe Minorら<sup>20)</sup>によるO23型の可能性がある。丸茂ら<sup>13)</sup>

によれば、O23型は既存の抗血清で抗O12型、抗O13型、および抗O14型血清と反応する混合型か、あるいは型別不能と判定される。

由来材料別にみた血清型分布は、分離株数の大半を占めていた呼吸器由来株と尿由来株とでは、差が認められていた。すなわち、前者はO4型やO5型が、後者ではO12型との混合型やO13型が多い傾向であり、これは当院における過去の成績<sup>6)</sup>ともほぼ一致していた。

なお、他施設の検討では尿由来株についての報告が多い。今回の検討ではO12型との混合型やO13型が優位であったが、これ以外にもO3型、O4型、O5型、O10型、O12型、O16型、O2/O3などが尿由来株で多かったことが報告<sup>7,9-11)</sup>されている。

今回の検討により、*S. marcescens*の血清型分布は年とともに変化しており、由来材料によっても優位な血清型には相違が認められた。最近では遺伝子型による型別法も導入され、特に院内感染把握のための疫学解析領域に用いられてきている<sup>21,22)</sup>。血清型別は型別不能株の存在から型別に限界があるものの、薬剤感受性パターンなど共に日常検査で利用可能な疫学マーカーとしてその有用性は依然高いものと思われた<sup>3)</sup>。

#### 謝 辞

混合型および型別不能株の吸収血清による検査をして下さいました、テンカ生検株式会社生物試薬製造部、杉山純一氏に深謝致します。

本論文の要旨は第40回日本化学療法学会総会(名古屋1992年)、第42回日本化学療法学会総会(東京1994年)、第45回日本臨床衛生検査学会総会(千葉1996年)にて発表した。

#### 文 献

- 1) Yu V L: *Serratia marcescens*; Historical perspective and clinical review. N. Engl. J. Med. 300: 887~893, 1979
- 2) Acar J F: *Serratia marcescens* infections. Infect. Control. 7: 273~278, 1986
- 3) Hejazi A, Falkiner F R: *Serratia marcescens*. J. Med. Microbiol. 46: 903~912, 1997
- 4) 小栗豊子, 村瀬光春: 臨床材料からの *Enterobacter-Serratia* 群の多剤耐性. Jap. J. Antibiot. 28: 137~142, 1975
- 5) Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, et al.: Molecular characterization of an enterobacterial metallo  $\beta$ -lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. Antimicrob. Agents Chemother. 38: 71~78, 1994
- 6) Igari J, Oguri T, Kosakai N: Antibacterial susceptibility of *Serratia marcescens* isolated from clinical materials. Jap. J. Antibiot. 37: 1625~1630, 1984
- 7) 山 博, 山田 薫, 辻本兵博: 臨床材料分離 *Serratia marcescens* の血清型と薬剤感受性; 院内感染に関連して 第2報. Jap. J. Antibiot. 32: 661~667, 1979
- 8) 上田 泰, 石山俊次, 坂崎利一, 他: *Serratia marcescens* に関する基礎的・臨床的研究. 第2報 アミノグリコシド系抗生剤に対する感受性の検討. Chemotherapy 28: 1~8, 1980
- 9) 酒井 茂, 西尾 彰, 熊本悦明: *Serratia marcescens* による尿路感染症に関する検討. Chemotherapy 28: 723~729, 1980
- 10) 後藤俊弘, 川原元司, 大井好忠: 尿路分離 *Serratia marcescens* の薬剤感受性. Chemotherapy 32: 709~717, 1984
- 11) 奥田俊郎, 広澤千男, 遠藤宣子, 他: 尿路感染症の起原因菌として分離された *Serratia marcescens* の血清型別および薬剤感受性. 感染症学雑誌 58: 483~490, 1985
- 12) 丸茂健治, 竹内 隆, 青木良雄: 臨床材料から分離された *Serratia marcescens* の O 抗原血清型別, 生化学的性状および薬剤感受性について. 臨床病理 35: 555~560, 1987
- 13) 丸茂健治, 竹内 隆, 青木良雄: 臨床材料から分離された *Serratia marcescens* の O 抗原血清型別, 生化学的性状および薬剤感受性について. 第2報. 臨床病理 38: 1077~1082, 1990
- 14) 丸茂健治, 長岐為一郎, 中村良子: 臨床材料より分離された *Serratia marcescens* の O 抗原血清型, 生物型, 薬剤感受性について (第3報). 臨床病理 40: 1312~1318, 1992
- 15) 丸茂健治, 中村良子, 福田さえ子: 臨床材料より分離された *Serratia marcescens* に対する O 抗原血清型別, 生物型および薬剤感受性について (第4報). 臨床病理 43: 1140~1146, 1995
- 16) Pitt T L, Erdman Y J: 3. Serological typing of *Serratia marcescens*. In Methods in microbiology, vol. 15 (Bergan T ed.). p. 173~211, Academic Press, Inc. Ltd., London, 1984
- 17) Le Minor S, Pigache F: Étude antigénique de souches de *Serratia marcescens* isolées en France. II. Caractérisation des antigènes o et individualisation de 5 nouveaux facteurs, fréquence des sérotypes et désignation des nouveaux facteurs H. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) 129 B: 407~423, 1978
- 18) Gaston M A, Pitt T L: O-antigen specificities of the serotype strains of *Serratia marcescens*. J. Clin. Microbiol. 27: 2697~2701, 1989
- 19) Auken H M, Wilkinson S G, Pitt T L: Immunochemical characterization of two new O serotypes of *Serratia marcescens* (O27 and O28). FEMS Microbiol. Lett. 138: 77~82, 1996
- 20) Le Minor S, Benzet F, Martin L: Nouveaux facteurs antigéniques O (O23) et H (H26) de *Serratia marcescens*. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) 134 B: 447~449, 1983
- 21) Traub W H, Eiden A, Leonhard B, et al.: Typing of nosocomial strains of *Serratia marcescens*; Comparison of Restriction enzyme cleaved genomic DNA fragment (PFGE) analysis with bacteriocin typing, biochemical profiles and serotyping. Zentralbl. Bakteriologie 284: 93~106, 1996
- 22) Miranda G, Kelly C, Solorzano F, et al.: Use of

pulsed-field gel electrophoresis typing to study an outbreak of infection due to *Serratia marcescens* in

a neonatal intensive care unit. J. Clin. Microbiol. 34: 3138~3141, 1996

## Bacteriological study on recent clinical isolates of *Serratia marcescens*

—1st report: Isolation and O-serotype distribution—

Shigeki Misawa<sup>1)</sup>, Toyoko Oguri<sup>1)</sup> and Jun Igari<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Clinical Laboratory, Juntendo University Hospital, 3-1-3, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8431, Japan

<sup>2)</sup> Department of Clinical Pathology, Juntendo University School of Medicine

We investigated the isolation frequency and O-serotype distribution of 550 isolates of *Serratia marcescens* from clinical specimens at the Juntendo University Hospital from 1991 to 1995. Of the 550 isolates, the most common were respiratory tract specimens including expectorates, aspirates and throat swabs, Urine, pus, and discharges were also frequent sources of specimens. Most isolates from pus and discharges derived from the skin, wounds and surgical drainage. Isolates from blood and intravenous indwelling catheters were few (less than 5%). The distribution of O-serotypes in this study was determined with the 16 anti-sera scheme. The most common O-serotypes were O5 (13.3%), O4 (10.5%) and complex types (17.0%). No isolates were identified as O1 or O11. Isolates of O4 and O5 were mainly found in respiratory tract specimens. More than 80% of complex types cross-reacted extensively between O12 and O14 anti-sera (O12/O14), which were frequently found in urine isolates from 1992 and 1993. During the past 5 years, non-typable strains slightly increased (19.6%). The overall result of the recent O-serotype distribution was different from that of previous reports in the 1980s. O4 was still a common serotype. O14, which was a major serotype in the 1980s, decreased in this study. In contrast, O5 and complex types (O12/O14) increased.