

## 黄色ブドウ球菌の薬剤感受性とコアグララーゼ型別

中 栄 正 隆<sup>1),2)</sup>・菅 原 芳 秋<sup>1)</sup>

日本歯科大学新潟歯学部

<sup>1)</sup> 口腔細菌学, <sup>2)</sup> 附属医科病院中央検査科

(昭和62年6月19日受付)

1981年10月から1985年12月までに本学病院内科, 外科, 耳鼻咽喉科, 口腔外科由来の材料から分離された209株の黄色ブドウ球菌の16薬剤に対する感受性とコアグララーゼ型別を行なった。

MIC<sub>90</sub>の成績から, Cephaloridine, Gentamicin, Minocycline, Cefazolin, Methicillin, Cefmetazoleが有効な薬剤であった。Methicillin耐性菌(MRSA)は12.4%分離され, 1株を除き多剤耐性菌であった。他の薬剤に対する耐性菌は2.6%(Chloramphenicol)から25.8%(Erythromycin)の間で分離され, 耐性菌の割合が少ない施設といえる。

$\beta$ -lactamaseは72.2%の菌が産生しており, AmpicillinのMICの高さと必ずしも一致していなかった。MRSAにはMinocyclineが有効であるが, 耐性菌も9.1%出現しており, 注目すべきことと思われる。

コアグララーゼ型は, VII型, II型, N型の順で分離され, この3型で81%を占めている。感受性との関係では, N型に耐性菌が多く(71.0%), II型はやや耐性菌が多く, VII型はほとんどが感受性菌(96.6%)であった。

細菌感染症の主役がグラム陽性球菌からグラム陰性桿菌に移る<sup>1)</sup>にともない, 使用される抗生物質もペニシリン, 第1世代セフェム剤から第2, 第3世代セフェム剤へと変化してきている。第3世代セフェム剤は従来薬が効きにくかった緑膿菌に有効であるが, 黄色ブドウ球菌に対しては抗菌力が強くない。このような, 菌にとっての環境の変化が, 臨床材料からの黄色ブドウ球菌の分離率に反映しているものと思われる。近年, 耐性ブドウ球菌用ペニシリンの一つであるMethicillin(DMPPC)に対して耐性を示す黄色ブドウ球菌(MRSA)が欧米や我が国でも報告されている<sup>2,3)</sup>。これらMRSAはDMPPCのみならずセフェムを含む多剤に耐性を示していることが, 臨床に大きな問題となっている。

今回我々は, 本学の内科, 外科, 耳鼻咽喉科, 口腔外科由来の臨床材料から分離された黄色ブドウ球菌の薬剤感受性とコアグララーゼ型別を行ない, 若干の知見を得たので報告する。

## I. 材料と方法

## 1. 菌株

1981年10月から1985年12月までに本学附属医科病院中央検査科で臨床材料から分離した209株の黄色ブドウ球菌を使用した。菌株の由来は, 扁桃80株(38.3%), 膿79株(37.8%; 耳漏45株, 膿汁25

株, 鼻汁5株, 口腔分泌物4株, 喀痰17株(8.1%), 咽頭液10株, 尿6株, 胆汁4株, その他11株であった。菌種の同定はコアグララーゼ試験と簡易同定キットのIDテストSP-18(ニッスイ)で行なった。

## 2. 薬剤感受性測定

最小発育阻止濃度(MIC)は日本化学療法学会標準法<sup>4)</sup>に準拠して測定した。培地は感受性測定用培地(ニッスイ)を使用した。用いた薬剤はAmpicillin(ABPC), Dimethoxyphenylpenicillin(DMPPC), Piperacillin(PIP), Cephaloridine(CER), Cefazolin(CEZ), Ceftizoxime(CZX), Cefmetazole(CMZ), Cefoperazone(CPZ), Latamoxef(LMOX), Tetracycline(TC), Minocycline(MINO), Chloramphenicol(CP), Erythromycin(EM), Lincomycin(LCM), Gentamicin(GM), Streptomycin(SM)の16薬剤である。

3.  $\beta$ -lactamase産生の有無

Cefinase(BBL)ディスクにて $\beta$ -lactamase産生を調べた。

## 4. コアグララーゼ型別

コアグララーゼ型別用免疫血清(デンカ生研)を用いて行なった<sup>5)</sup>。

## II. 結 果

1. 16 薬剤に対する感受性と  $\beta$ -lactamase 産生菌  
各種臨床材料から分離した黄色ブドウ球菌 209 株の  
16 薬剤に対する感受性を測定し、その結果を Table 1  
に示した。最小発育阻止濃度 (MIC) の幅は中央値を中心  
に広く分布している。MIC<sub>50</sub> で薬剤間の比較をする  
と、CER, GM, MINO, CEZ, DMPPC, CMZ は有効  
な薬剤であり、EM, LCM は耐性菌が多く、そのために  
MIC<sub>50</sub> が高くなっている。ABPC, CZX, CPZ, TC,  
LMOX, CP, PIPC, SM の MIC<sub>50</sub> は 3.13~12.5  $\mu$ g/  
ml と中間値を示している。

$\beta$ -lactamase 産生の有無と ABPC, DMPPC の MIC

値を比較したのが Fig. 1 である。209 株中、151 株  
(72.2%) が  $\beta$ -lactamase 産生菌であった。必ずしも  
MIC 値が高い菌株だけが  $\beta$ -lactamase を産生している  
訳ではない。

## 2. 耐性菌の割合と耐性型

薬剤感受性測定の結果、MIC の二峰性分布の谷間の  
値を耐性限界値とし、この薬剤濃度で増殖する菌を耐性  
菌とした。Table 2 にその割合を示した。耐性菌は 2.4  
%(CP) から 25.8%(EM) の間に分布していた。 $\beta$ -lac-  
tam 剤に対しては 12.4%~17.7% の頻度で耐性菌が分  
離され、MRSA は 12.4% であった。MINO 耐性菌は  
9.1%, GM 耐性菌は 13.9% であった。

Table 1 Susceptibility of 209 strains of *S. aureus* to 16 antimicrobial agents

Antibiotics	MIC range	Median	MIC <sub>50</sub> <sup>a)</sup>	MIC <sub>80</sub> <sup>a)</sup>
ABPC	≤0.20- 50	0.78	0.78	3.13
DMPPC	≤0.20-≥200	1.56	1.56	1.56
PIPC	≤0.20-≥200	0.78	3.13	12.5
CER	≤0.20- 25	≤0.20	≤0.20	≤0.20
CEZ	≤0.20-≥200	≤0.20	0.39	0.78
CZX	≤0.20-≥200	0.78	1.56	3.13
CMZ	≤0.20- 100	0.78	0.78	1.56
CPZ	0.39-≥200	0.78	1.56	3.13
LMOX	0.39-≥200	3.13	3.13	6.25
TC	≤0.20-≥200	0.39	0.39	3.13
MINO	≤0.20- 50	≤0.20	≤0.20	0.39
CP	1.56- 100	6.25	6.25	6.25
EM	≤0.20-≥200	0.39	0.78	≥200
LCM	0.39-≥200	0.78	1.56	≥200
GM	≤0.20-≥200	≤0.20	≤0.20	0.39
SM	1.56-≥200	3.13	6.25	12.5

<sup>a)</sup> MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>80</sub> indicate MIC ( $\mu$ g/ml) for 50 and 80% of the strains.

Fig. 1 Distribution of  $\beta$ -lactamase-producing strains in those having different MICs. Bars on the left indicate ABPC MICs, and on the right DMPPC MICs. Black bars show  $\beta$ -lactamase-positive strains and white show  $\beta$ -lactamase-negative strains.

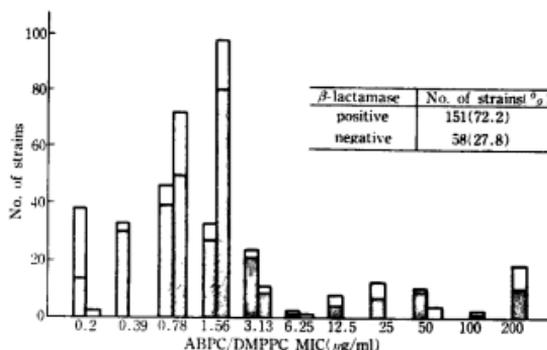


Table 2 Isolation frequency of resistant strains of *S. aureus* against 16 antimicrobial agents

Antibiotics	Criterion values of resistance ( $\mu\text{g/ml}$ )	Resistant	
		strains	%
ABPC	6.25	32	15.3
DMPPC	12.5	26	12.4
PIPC	25	32	15.3
CER	0.20	33	15.8
CEZ	3.13	27	12.9
CZX	3.13	37	17.7
GMZ	3.13	26	12.4
CPZ	3.13	34	16.3
LMOX	6.25	30	14.4
TC	6.25	37	17.7
MINO	6.25	19	9.1
CP	12.5	5	2.4
EM	3.13	54	25.8
LCM	12.5	45	21.5
GM	0.78	29	13.9
SM	25	26	12.4

Table 3 Resistant types of 62 strains of *S. aureus* against ABPC, DMPPC, CER, CMZ, TC, EM, and GM

Resistant types	No. of strains	No. of antibiotics <sup>a)</sup>
TC	3	I
EM	8	
GM	3	
TC, EM	6	II
EM, GM	2	
ABPC, CER	1	
DMPPC, TC	1	III
TC, EM, GM	6	
ABPC, CER, EM, GM	2	IV
ABPC, CER, TC, EM	2	
ABPC, CER, TC, EM, GM	1	V
ABPC, CER, CMZ, EM, GM	2	
ABPC, DMPPC, CER, CMZ, EM	7	
DMPPC, CER, CMZ, TC, EM	1	VI
ABPC, DMPPC, CER, CMZ, TC, EM	4	
ABPC, DMPPC, CER, TC, EM, GM	1	
ABPC, DMPPC, CER, CMZ, TC, EM, GM	12	VII

<sup>a)</sup> No. of antibiotics showing resistance.

ABPC, DMPPC, CER, CMZ, TC, EM, GM の 7 薬剤について耐性型別を行なった (Table 3)。単剤耐性は TC, EM, GM の 3 薬剤のみで、他の 4 薬剤に対する単剤耐性菌は得られなかった。1 剤から 3 剤までの耐性菌 30 株の内、28 株 (93%) が (TC, EM, GM) 耐性菌であった。DMPPC 耐性菌はほとんどが 5 剤から 7 剤耐性の、いわゆる多剤耐性菌であり、1 株のみが TC と

の 2 剤耐性菌であった。

### 3. コアグラーゼ型別と薬剤感受性

Table 4 にコアグラーゼ型別と薬剤感受性の関係を示した。

分離菌株は VII 型が最も多く (33%)、次いで II 型、IV 型であり、この 3 つの型で全体の 81% を占めている。III 型、I 型、V 型、VI 型も 6~3% 分離されたが、VIII 型は

Table 4 Coagulase types of *S. aureus* isolated from clinical specimens and percentage of resistant strains in each type

Coagulase types	Total strains	No. of susceptible strains (%)	No. of resistant strains (%)
I	9 (5.0) <sup>a)</sup>	8 (88.9) <sup>b)</sup>	1 (11.1) <sup>b)</sup>
II	55 (30.7)	28 (47.3)	29 (52.7)
III	11 (6.1)	11 (100)	0
IV	31 (17.3)	9 (29.0)	22 (71.0)
V	8 (4.5)	6 (75.0)	2 (25.0)
VI	6 (3.4)	5 (83.3)	1 (16.7)
VII	59 (33.0)	57 (96.6)	2 (3.4)
VIII	0	0	0

<sup>a)</sup> Percentage of total strains.

<sup>b)</sup> Percentage of susceptible or resistant strains in each coagulase type.

全く得られなかった。

耐性菌との関係はⅡ型が71%と最も多く、Ⅱ型は感受性菌よりやや多く(52.7%)、その他は感受性菌が多い結果であった。特にⅦ型はほとんどが感受性菌であった(96.6%)。

### III. 考 察

近年、我が国でも MRSA の増加が報告されている<sup>1-5,9)</sup>。我々は当大学院の、MRSA をはじめとする薬剤耐性黄色ブドウ球菌の分離状況を知る目的で本研究を行なった。

MIC<sub>50</sub> の比較から CER>GM, MINO>CEZ>DMPPC, CMZ の順に有効であった (Table 1)。他の薬剤は効果が小さく、CP は耐性菌の割合が最も少ないが、MIC の中央値が 6.25 µg/ml と高い値を示している、無効であった。耐性菌の割合は最も多く分離された EM でも 25.8% と、ほとんどの薬剤で松本ら<sup>4)</sup>、那須ら<sup>9)</sup> の報告と比較して少なかった (Table 2)。しかし MINO 耐性菌のみが 9.1% と高率に分離されている。MIC<sub>50</sub> の値からも MRSA に MINO が有効との結果は、諸家の報告と同様であったが、耐性菌の分離率をみると、MRSA に MINO が常用されることによる MINO 耐性菌の増加が懸念される。二峰性の MIC 分布から耐性菌を選んだが、ABPC の MIC が ≤0.20 µg/ml の感受性菌も β-lactamase を産生しており、薬剤による誘導などで MIC が上昇することも考えられ、注目すべきことと思われる。渡辺ら<sup>10)</sup>は、我々のデータと異なり、β-lactamase 産生株は ABPC の MIC が ≥1.56 µg/ml で、非産生株は ≤0.39 µg/ml と報告している。

耐性型別のデータからは、全般的に多剤耐性化の傾向は認められなかった (Table 3)。しかし DMPPC 耐性菌に限ってみると、多剤耐性化しているといえる。

コアグララーゼ型ではⅦ型、Ⅱ型、Ⅳ型、Ⅲ型の順に分

布し、松本ら<sup>10)</sup>の報告と同様であった。那須ら<sup>9)</sup>によると、Ⅳ型、Ⅶ型、Ⅲ型の順で分布しており、施設の違いが反映している。松本らの報告は全国 45 施設から集めた黄色ブドウ球菌について、コアグララーゼ型を調べているが、この中でも地方および地域などに関係なく、施設間で異なった分布を示している。

薬剤感受性との関係をみると、コアグララーゼⅡ型に耐性菌が多く、Ⅶ型では圧倒的に感受性菌が多かった。これらの理由については明確でないが、Ⅳ型の黄色ブドウ球菌がかなり耐性化していることは松本ら<sup>10)</sup>が指摘している通りである。

今後、黄色ブドウ球菌の耐性化の動向を中心に、疫学的なデータを集積していきたい。

本論文の要旨は第 27 回東北臨床衛生検査学会 (一関、1986 年 9 月)、第 33 回日本化学療法学会東日本支部総会 (秋田、1986 年 9 月) にて発表した。

### 文 献

- 1) 猪狩 淳, 小酒井 望: 最近の血液分離菌の動向と臨床的背景. 最新医学 35: 1765~1771, 1980
- 2) GRIEBLE, H. G.; S. L. KRAUSE, S. A. PAPPAS & M. B. DICOSTANZO: The prevalence of high-level methicillin resistance in multiply resistant hospital staphylococci. *Medicine* 60: 62~69, 1981
- 3) 島田 馨, 安達桂子, 田中喜久子, 上条仁子, 佐々木宗男, 島山 勲, 稻松孝思, 浦山京子: セフェムを含む多剤耐性黄色ブドウ球菌の分離状況と 41 抗菌剤に対する感受性. *Chemotherapy* 31: 835~841, 1983
- 4) 松本慶彦, 工藤和治, 宇塚良夫, 渡辺貴和雄, 永武 毅, 力富直人, 高橋 淳, 鈴木 寛: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌, 第 1 報 β-lactam 剤感受性について. *Chemotherapy* 32: 344~353, 1984
- 5) 那須 勝, 後藤 純, 後藤陽一郎, 田代隆良, 糸

- 賀 敬, 菅原弘一, 伊東盛夫: 最近分離した黄色ブドウ球菌の化学療法剤感受性: 一新設医科大学病院における動向。Chemotherapy 33: 427~433, 1985
- 6) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 7) 寺山 武: 細菌の型別法 [2] ブドウ球菌。検査と技術 14: 141~145, 1986
- 8) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 渡辺貴和雄, 永武 毅, 力富直人, 高橋 淳, 鈴木 寛: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌, 第2報  $\beta$ -lactam 剤以外の抗生物質感受性及び多剤耐性菌の現況と治療への考察。Chemotherapy 32: 517~526, 1984
- 9) 渡辺 彰, 大泉耕太郎, 佐々木昌子, 青沼清一, 大沼菊夫, 小野玲子, 本田芳広, 今野 淳: 多剤耐性黄色ブドウ球菌に関する研究 (I), 喀痰由来黄色ブドウ球菌の薬剤感受性および  $\beta$ -lactamase 産生能の年次比較。Chemotherapy 34: 859~868, 1986
- 10) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 渡辺貴和雄, 永武 毅, 力富直人, 高橋 淳, 鈴木 寛: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌, 第3報 コアグラマーゼ型の分類における検体別, 地方別, 施設別検討及び薬剤感受性成績。Chemotherapy 32: 527~533, 1984

## SUSCEPTIBILITY AND COAGULASE TYPING OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* TO 16 ANTIBIOTICS

MASATAKA NAKAE<sup>1),2)</sup> and YOSHIKI SUGAHARA<sup>2)</sup>

Department of Oral Microbiology<sup>1)</sup> and Clinical Laboratory<sup>2)</sup>,

School of Dentistry at Niigata, Nippon Dental University, Niigata

Two hundred and nine strains of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens were tested for drug-susceptibility to 16 antibiotics and coagulase typing.

Comparing the MIC<sub>90</sub> of the 16 drugs, we found that cephaloridine, gentamicin, minocycline, cefazolin, methicillin, and cefmetazole were effective against *S. aureus*. The isolation frequency of methicillin-resistant strains (MRSA) was 12.4%, and almost all MRSA were multiple-resistant. The isolation frequency of drug-resistant strains to other antibiotics was between 2.6% (chloramphenicol) and 25.8% (erythromycin). The percentage of  $\beta$ -lactamase-producing strains was 72.2%. We found no relation between the MIC of ampicillin and  $\beta$ -lactamase production. Though minocycline is effective against MRSA, 9.1% of strains were resistant.

We also examined the coagulase typing of *S. aureus*. Type VI strains were predominantly isolated (33.0%), followed by type II (30.7%) and type V (17.3%). Correlation between coagulase type and drug susceptibility was noted. Almost all drug-resistant strains belonged to coagulase type V and most of the coagulase type VI strains were sensitive to all 16 antibiotics.