

血液、呼吸器由来メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の  
各種アミノ配糖体抗生物質に対する感受性

出口 浩一・横田のぞみ・古口 昌美・深山成美

西村由紀子・村尾 久子

東京総合臨床検査センター研究部

小田 清次・田中 節子・佐藤久美子・加藤三枝子

東京総合臨床検査センター検査第Ⅱ部(細菌部門)

福 本 實 雄

福本医院

(昭和 62 年 3 月 7 日受付)

敗血症、呼吸器感染症由来の Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 50 株を用いて、アミノ配糖体抗生物質 (AGs) 9 剤 [Arbekacin (HBK), Dibekacin (DKB), Gentamicin (GM), Amikacin (AMK), Tobramycin (TOB), Netilmicin (NTL), Sisomicin (SISO), Micronomicin (MCR), Astromicin (ASTM)],  $\beta$ -lactam 系抗生物質 2 剤 [Methicillin (DMPPC), Cefazolin (CEZ)] に対する感受性を検討した。

1) MRSA に対する AGs の抗菌力は、HBK, NTL が優れていて、その MIC<sub>90</sub> は、HBK 0.78  $\mu$ g/ml, NTL 1.56  $\mu$ g/ml だった。AMK は、 $>100 \mu$ g/ml の MIC 値を示す高度耐性株は少ないが、MIC<sub>90</sub> は、25  $\mu$ g/ml を示していた。

その他の AGs は、MIC<sub>90</sub> で、DKB, GM, SISO が各々 100  $\mu$ g/ml, TOB, MCR, ASTM が各々  $>100 \mu$ g/ml であり抗菌力が劣る。

GM, SISO, MCR, ASTM の MIC 値の分布は同一パターンを示し、TOB は高度耐性株が高率を占めるなど、MRSA に対する AGs の抗菌力は、複雑かつ多様である。

2) MRSA に対する DMPPC, CEZ の MIC 値分布はほぼ同様で、DMPPC 耐性は CEZ 耐性であることを確認した。

DMPPC の MRSA に対する MIC 値分布は、32°C, 37°C によって多少異なり、37°C では一部の株が感受性側の MIC 値を示したが、大部分の株は 37°C でも高度耐性の MIC 値を示した。これらのことから MRSA は温度条件によって  $\beta$ -lactam 系剤に対する感受性が変動しうる株と、温度条件には感受性が依存しない。より頑固な多剤耐性菌としての性格をもつ株が併存することを示唆していた。

近年、MRSA が臨床的に問題にされていて、MRSA が起炎菌となった難治な菌血症、呼吸器感染症などの報告がみられている<sup>1-4)</sup>。

MRSA は多剤耐性菌<sup>5)</sup>としての特徴をもつため、既存のペニシリン系抗生物質 (PCs), セフェム系抗生物質 (CEPs), AGs などの大部分に高度耐性を示す<sup>5)</sup>。私たちはすでに MRSA と考えられる多剤耐性菌に対する多種類の CEPs, 一部の AGs などの抗菌力を 1985 年に報告しているが<sup>5)</sup>、このたび、血液由来、呼吸器由来の MRSA に対する多種類の AGs の MIC を検討した。

## I. 検 討 方 法

### (1) 供試菌株

1986 年 4 月 10 日～1986 年 10 月 28 日の間に当センター研究部に全国から送付されてきた血液、呼吸器由来の *S. aureus* の中から、Methicillin に 32°C, 10<sup>6</sup> CFU/ml 接種時で、 $\geq 100 \mu$ g/ml の MIC 値を示した下記の 50 株をアトランダムに保存し、検討に供した。

静脈血・動脈血由来: 11 株

喀痰・気道分泌物由来: 39 株

なお、これら 50 株はすべて異なる施設から送付され

た菌株である。

(2) 使用薬剤

HBK (明治製薬), DKB (明治製薬), GM (エセック  
ス日本), AMK (萬有製薬), TOB (塩野義製薬), NTL  
(三共), SISO (山之内製薬), MCR (協和製薬), ASTM  
(協和製薬), DMPPC (萬有製薬), CEZ (藤沢薬品)。

以上の標準原末を用いた。

(3) 感受性 (MIC) 測定法

MIC 測定培地 (栄研) を用いた日本化学療法学会  
MIC 測定標準法 (再改訂法) に従った平板希釈法。11  
剤の MIC 測定はすべて  $10^6$  CFU/ml の菌量を用い、培  
養は  $37^{\circ}\text{C}$  22 時間で行なった。

II. 成 績

Table 1 に由来別の MIC 実測値を示した。これで見

Table 1 Susceptibilities of MRSA to AGs, DMPPC and CEZ

( $10^6$  CFU/ml)

Drug	Isolated from*	No. of strain	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )														
			0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100		
HBK	A	11			5	2	3	1									
	B	39		6	15	10	2	3	2			1					
	Total	50		6	20	12	5	4	2			1					
DKB	A	11				1		1		1		1				3	4
	B	39					2	2	3	2		1	4		9	16	
	Total	50				1	2	3	3	3		2	4		12	20	
GM	A	11		2	1							1	1		3	4	
	B	39	2	5		1						1	1	3	10	16	
	Total	50	2	7	1	1						1	2	3	13	20	
AMK	A	11								2	2	3	2	2			
	B	39					2	3	4	7	8	7	5	2	1		
	Total	50					2	3	6	9	11	9	7	2	1		
TOB	A	11											1	1	9		
	B	39										1	2	4	31		
	Total	50										1	3	5	40		
NTL	A	11		2	1		5	2				1					
	B	39		6	3	9	7	5	4	3	1						1
	Total	50		8	4	9	12	7	4	3	1						1
SISO	A	11		3								1	1	3	3		
	B	39	2	5	1						1	4	6	8	12		
	Total	50	2	8	1						1	5	7	11	15		
MCR	A	11			2	1											8
	B	39		2	5	1						1				30	
	Total	50		2	7	2						1				38	
ASTM	A	11				2	1										8
	B	39			5	2	1					2				29	
	Total	50			5	4	2					2				37	
DMPPC	A	11									1		2				8
	B	39									1	3	1	3			31
	Total	50									2	3	3	3			39
CEZ	A	11									1		1	1	8		
	B	39									1	1	3	4	30		
	Total	50									2	1	4	5	38		

\* A: Blood, B: Sputum or exudates from respiratory tract.

ると、由来株の違いによる MIC 値の分布に差が認められなかったので、血液、呼吸器由来をひとまとめにして成績をまとめた。Fig. 1 は HBK, DKB, AMK, TOB, Fig. 2 が GM, NTL, SISO, MCR, ASTM, そして Fig. 3 が DMPPC, CEZ の MIC 分布である。なお、Table 2 に MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>, MIC<sub>95</sub> を示した。

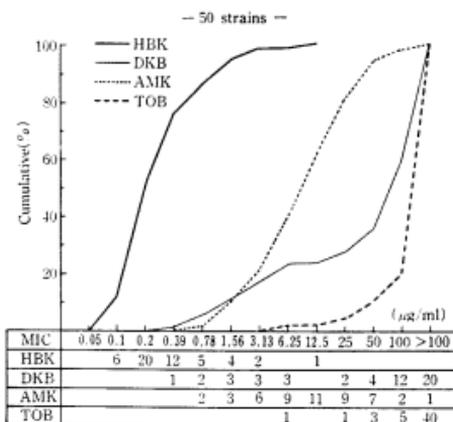
#### (1) AGs に対する感受性

HBK, NTL の抗菌力は良好で、両剤の MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub> は、前者が 0.2  $\mu\text{g/ml}$ , 0.78  $\mu\text{g/ml}$ , 後者が 0.78  $\mu\text{g/ml}$ , 1.56  $\mu\text{g/ml}$  である。AMK は  $>100 \mu\text{g/ml}$  の高度耐性株は 1 株であるが、MIC<sub>50</sub> は 12.5  $\mu\text{g/ml}$ , MIC<sub>90</sub> は 25  $\mu\text{g/ml}$  であった。

Table 2 Susceptibility (MIC<sub>50,90,95</sub>) of MRSA  
— 50 strains —

Drug	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	MIC <sub>95</sub>
HBK	0.2	0.78	1.56
DKB	100	>100	>100
GM	100	>100	>100
AMK	12.5	25	50
TOB	>100	>100	>100
NTL	0.78	1.56	6.25
SISO	100	>100	>100
MCR	>100	>100	>100
ASTM	>100	>100	>100
DMPPC	>100	>100	>100
CEZ	>100	>100	>100

Fig. 1 Susceptibilities of MRSA to HBK, DKB, AMK and TOB



その他の AGs の抗菌力は劣る成績で、その MIC<sub>50</sub> は、DKB, GM, SISO が各々 100  $\mu\text{g/ml}$ , TOB, MCR, ASTM は各々  $>100 \mu\text{g/ml}$  であった。

GM, SISO, MCR, ASTM に対しては、同一の感受性パターンを示した。すなわち GM が 0.05~0.39  $\mu\text{g/ml}$  の感受性側の MIC 値を示した 11 株は、SISO, MCR, ASTM のいずれもが同様の MIC 値を示し、反対に GM が 12.5  $\mu\text{g/ml}$ ~ $>100 \mu\text{g/ml}$  の耐性側の MIC 値を示した 39 株は、SISO, MCR, ASTM もそれぞれ耐性値を示した。一方、TOB は、 $>100 \mu\text{g/ml}$  の MIC 値を示す高度耐性株が 40 株 (80%) と高率であり、DKB の MIC 値の分布も、他とは異なる分布を示し

Fig. 2 Susceptibilities of MRSA to GM, NTL, SISO, MCR and ASTM

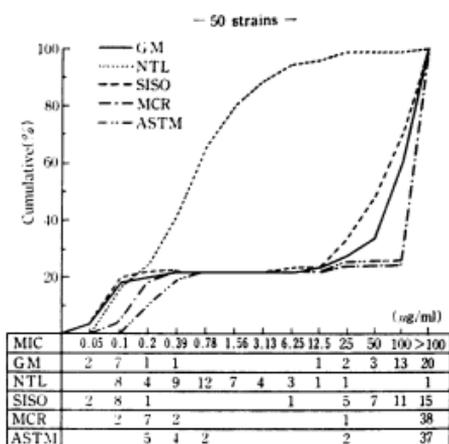
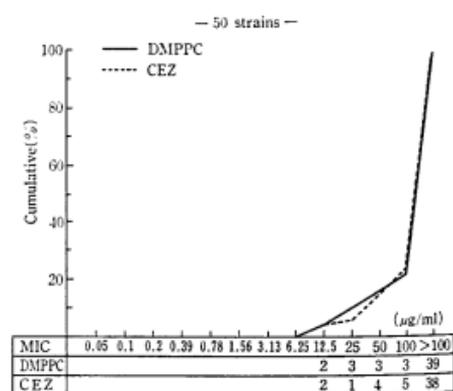


Fig. 3 Susceptibilities of MRSA to DMPPC and CEZ



た。

これらのことから、MRSA の AGs に対する感受性パターンはかなり複雑かつ多様であることが判明した。

### (2) DMPPC, CEZ に対する感受性

DMPPC, CEZ の MIC 値の分布はほぼ同様で、DMPPC 耐性は、CEZ 耐性であることを示していた。

今回の検討に供した 50 株は、DMPPC, 32°C, 10<sup>6</sup> CFU/ml 時の MIC が  $\geq 100 \mu\text{g/ml}$  を示した株である。37°C で検討した今回の成績では、50 株中 8 株が、DMPPC の MIC 値 12.5~50  $\mu\text{g/ml}$  のやや感受性側に分布した。しかし、残りの 42 株は DMPPC の MIC 値が  $\geq 100 \mu\text{g/ml}$  であった。このうち、DMPPC の MIC 値  $> 100 \mu\text{g/ml}$  の高度耐性 39 株中 38 株は、TOB の MIC 値  $> 100 \mu\text{g/ml}$  を示していた。

以上のことから MRSA は、MIC を測定するための温度条件によって DMPPC, CEPs などの  $\beta$ -lactam 系剤に対する感受性が変動しうる株と、温度条件には感受性が必ずしも依存しない株があり、後者は多剤耐性菌としての性格がより強いことを示唆していた。

### III. 考 察

MRSA による感染症に関する報告は近年わが国においても多数みられるが<sup>1-4)</sup>、和田らは、MRSA による菌血症 14 例、呼吸器感染症 10 例などの報告をしていて<sup>5)</sup>、菌血症は 10 例、呼吸器感染症は 5 例が死亡したとしている。これらは基礎疾患が重篤<sup>6)</sup>であるにしても、かなり高い死亡率である。一方、大島らは、MRSA を含む 3 例の CEPs 耐性 *S. aureus* による膿胸の報告をしているが<sup>7)</sup>、いずれも難治であったことを認めている。和田、大島らの報告のもう一方の共通点は、これら MRSA が、CEPs, AGs を含む多剤耐性菌であったことである。

著者らは、すでに MRSA は多剤耐性菌であることを報告しているが<sup>8)</sup>、その特徴として、MRSA の多くは、PCs, CEPs, AGs, マクロライド系抗生物質に耐性である。しかし、CEPs に対する感受性の割合は一律ではなく、ほぼ 3 群に分れる<sup>9)</sup>。今回の検討目的は MRSA の AGs に対する感受性であるが、その成績は多様であった。このうち、HBK, NTL が良好な抗菌力を示した。

HBK, NTL が AGs 耐性 *S. aureus* に良好な抗菌力を示すことを、著者はすでに 1982 年に報告しているが<sup>9)</sup>、同様の報告は、小酒井ら<sup>10)</sup>、島田ら<sup>11)</sup>、山下ら<sup>12)</sup>、小栗ら<sup>13)</sup>、斉藤ら<sup>14)</sup>、吉田ら<sup>15)</sup>も報告している。山下らは、*S. aureus* の AGs 耐性は多様であると指摘し、HBK は AGs 耐性ブドウ球菌中に存在する AGs 修飾酵素の基質とはなり難いことが考えられるとしている。そして山下らはさらに、AGs 耐性 *S. aureus* には、NTL も良好

な MIC を示しうることを述べている<sup>9)</sup>。

生方らは、ブドウ球菌の AGs 不活化酵素としては、APH (2''), AAC (6'), APH (3')-III, および AAD (4') を報告している<sup>16)</sup>。APH (2'') は、AAC (6') の活性も合わせて有しており、GM, DKB, TOB を、そして AAD (4') は TOB, AMK を基質とすることが知られている<sup>9)</sup>。今回検討した 50 株が、これらいずれかの AGs 不活化酵素を有することは明らかであるが、APH (2''), AAD (4') 産生株が多いことが考えられ、野々口ら<sup>17)</sup>、和田ら<sup>18)</sup>の報告とほぼ同様である。そして、これらの AGs 不活化酵素に HBK, NTL は安定であることが、今回の成績に反映したものと考えられる。

MRSA は多剤耐性菌であることを著者も含め多くの報告が認められているところであるが、山下らは上述の報告とは別の報告でこのことを指摘し、AAD (4') を産生する *S. aureus* は、MRSA としての性格を有しているとしている<sup>15)</sup>。つまりこのことは、MRSA を論じる場合には、*S. aureus* の AGs 耐性菌にも注目しなくてはならないことを示唆しているといえよう。そうした意味で、HBK, NTL が現状で分離される MRSA に良好な抗菌力を示すことに注目したい。特に HBK は、山下らの詳細な検討<sup>9)</sup>、渡辺らの実験的マウス MRSA 感染症に対する HBK の感染防御効果<sup>16)</sup>、和田らの HBK を用いた臨床効果<sup>11)</sup>などの検討が行なわれており、現状で分離される MRSA に、有効な抗菌剤のひとつと考えられる。

なお、今回の検討では、さらに、DMPPC, CEZ に対する感受性も検討に加えた。山下らは、MRSA に関する Penicillin binding protein 2' (PBP-2') は、温度感受性であるため、PCs, CEPs などの  $\beta$ -lactam 系剤の MRSA に対する MIC 値は、30~32°C, 37°C では大きく異なり、37°C では  $\beta$ -lactam 系剤の MIC 値は、低い値を示すとしている<sup>15)</sup>。私たちの今回の検討でも、DMPPC の MIC 値は、50 株中 8 株が 32°C よりも 37°C で測定した方が低い値を示した。しかし、その割合は山下らの成績よりもかなり少ない。これらは、検討に供した由来株、年代 (山下らの株は 83 年分離株) などによる違いとも考えられる。なぜなら、山下らの検討でも 37°C, 10<sup>6</sup> CFU/ml 接種時における DMPPC の MIC 値が  $\geq 100 \mu\text{g/ml}$  を示す高度耐性株が 50 株中 16 株 (32%) 残存していた。つまり 37°C においても  $\beta$ -lactam 系剤の MIC 値が変動しない MRSA が、かなり存在することを、山下らの成績からもみることができると考えられる。これらのことから MRSA は、 $\beta$ -lactam 系剤に対する感受性が温度条件に依存する株と、温度条件には左右されない、より頑固な多剤耐性菌としての性格をもつ

株とが併存していることが推察される。そして現状は、後者の株、すなわち温度条件にはかならずしも依存しない MRSA の増加傾向を、今回の成績が示唆しているものと考えた。

### 文 献

- 1) 和田光一, 武田 元, 荒川正昭, 尾崎永子, 高野操: 多剤耐性黄色ブドウ球菌感染症の検討。Chemotherapy 投稿中
- 2) 大島久明, 山口 覚, 大坪庸子, 阿部啓次郎, 小田慎一: セフェムを含む多剤耐性黄色ブドウ球菌による膿胸三例の臨床経過とその問題点。臨床と研究 62(2): 135~139, 1985
- 3) 出口浩一, 深山成美, 西村由紀子, 西家駿子, 小田清次, 佐藤慎一, 松本好弘, 池上亮祐, 横田のぞみ, 田中節子, 福本寅雄: Cefmenoxime 耳用液の臨床細菌学的有用性に関する検討。Jap. J. Antibiotics 38: 1739~1749, 1985
- 4) 出口浩一, 横田のぞみ, 田中節子, 深山成美, 西村由紀子, 吉原久子, 小田清次, 松本好弘, 池上亮祐, 佐藤久美子, 福本寅雄: 耳用 Fosfomycin の臨床細菌学的検討。Jap. J. Antibiotics 39: 2344~2354, 1986
- 5) 出口浩一, 深山成美, 西村由紀子, 横田のぞみ, 田中節子, 小田清次, 松本好弘, 池上亮祐, 佐藤久美子, 豊永義清, 黒須義彦, 杉田守正, 堀 誠, 保科定額, 黒坂公生, 永井高史, 篠原紀子, 小坂諭, 片山紀美代, 高橋孝行, 藤岡義丸: 多剤耐性黄色ブドウ球菌の薬剤感受性に関する検討。Jap. J. Antibiotics 38: 2163~2170, 1985
- 6) 出口浩一: 臨床分離株のミノ配糖体剤を主とする抗生物質に対する感受性。Jap. J. Antibiotics 35: 1977~1986, 1982
- 7) 小酒井 望, 小栗豊子: 臨床分離菌に対する Netilmicin の抗菌力の Gentamicin, Tobramycin, Amikacin との比較。Chemotherapy 29(S-3): 11~24, 1981
- 8) 島田 馨, 船松孝思, 浦山京子, 安達桂子: Netilmicin の研究—GM 耐性 *Staphylococcus aureus* に対する抗菌力および慢性感染症についての臨床的検討。Chemotherapy 29 (S-3): 184~188, 1981
- 9) 山下直子, 生方公子, 野々口律子, 後藤 朗, 松下真理, 紺野昌俊: アミノ配糖体薬に耐性のブドウ球菌に対する HBK の抗菌作用。Chemotherapy 34 (S-1): 33~40, 1986
- 10) 小栗豊子, 林 康之: 臨床材料分離株に対する HBK の抗菌力について。Chemotherapy 34 (S-1): 41~57, 1986
- 11) 齊藤 玲, 加藤康道, 石川清文, 小田祐栄之輔, 篠原正英, 福原育夫, 富沢磨須美, 中山一朗, 佐藤 清: HBK に関する研究。Chemotherapy 34 (S-1): 129~137, 1986
- 12) 吉田俊昭, 山本真志, 大石和徳, 田口幹雄, 井手政利, 渡辺貴和雄, 松本慶蔵: 新アミノ配糖体系抗生物質 HBK の基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 34 (S-1): 332~343, 1986
- 13) UBUKATA, K.; N. YAMASHITA, A. GOTOH, M. KONNO: Purification and characterization of aminoglycoside-modifying enzymes from *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Antimicrob. Agents Chemother. 25: 745~759, 1984
- 14) 野々口律子, 後藤 朗, 山下直子, 生方公子, 紺野昌俊, 川上小夜子: 4,4'-アデニル転移酵素を産生する黄色ブドウ球菌の分離状況について。Chemotherapy 32: 89~98, 1984
- 15) 山下直子, 生方公子, 松下真理, 紺野昌俊, 増田真理子, 野々口律子: メチシリン・セフェム耐性の黄色ブドウ球菌に対する  $\beta$ -ラクタム系薬剤の抗菌力測定時における培養温度の影響。Chemotherapy 33: 743~752, 1985
- 16) 渡辺忠洋, 五井 仁, 原 哲郎, 香野利恵, 田中佳子, 数野勇造, 松橋祐二, 山本治夫, 横田 健: メチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に対する新アミノ配糖体抗生物質, HBK の抗菌力。Jap. J. Antibiotics 投稿中

ANTIBIOTIC ACTIVITY OF VARIOUS AMINOGLYCOSIDE  
ANTIBIOTICS AGAINST MRSA ISOLATED FROM BLOOD  
AND SPUTUM OR EXUDATES FROM PATIENTS  
WITH SEPTICEMIA OR RESPIRATORY  
TRACT INFECTION

KOICHI DEGUCHI, NOZOMI YOKOTA, MASAMI KOGUCHI, SHIGEMI FUKAYAMA,  
YUKIKO NISHIMURA and HISAKO MURAO  
Section of Studies, Tokyo Clinical Research Center

SEIJI ODA, SETSUKO TANAKA, KUMIKO SATO and MIEKO KATO  
Section of Bacteria, Tokyo Clinical Research Center

TORAO FUKUMOTO  
Fukumoto Clinic

The antibiotic activities of 9 aminoglycoside antibiotics (AGs) [arbekacin (HBK), dibekacin (DKB), gentamicin (GM), amikacin (AMK), tobramycin (TOB), netilmicin (NTL), sisomicin (SISO), micronomicin (MCR) and astromicin (ASTM)] and 2 beta-lactam antibiotics [methicillin (DMPPC) and cefazolin (CEZ)] were examined against 50 MRSA strains isolated from blood, sputum or exudates from patients with septicemia or respiratory tract infections.

1) Antibiotic activities of various AGs against MRSA: The antibiotic activities of HBK and NTL were excellent, i. e., their MIC<sub>50</sub> values were 0.78 µg/ml and 1.56 µg/ml, respectively. The MIC<sub>50</sub> of AMK was 25 µg/ml although there were a few strains which were resistant to more than 100 µg/ml.

The other AGs showed inferior antibiotic activity; the MIC<sub>50</sub> values of DKB, GM and SISO were 100 µg/ml, and those of TOB, MCR and ASTM were more than 100 µg/ml.

The MIC distributions of GM, SISO, MCR and ASTM showed the same pattern, while highly-resistant strains occupied a high percentage of the MIC distribution of TOB. The antibiotic activities of these AGs were thus diverse.

2) MIC distributions of DMPPC and CEZ: The MIC distribution of DMPPC was almost the same as that of CEZ; strains which were resistant to DMPPC were also resistant to CEZ.

The MIC distribution of DMPPC against MRSA varied somewhat with the temperature, 32°C and 37°C. Some strains showed a low MIC at 37°C, while most of the other strains showed a very high MIC even at 37°C. These results suggest that some MRSA strains' susceptibility to beta-lactam antibiotics is temperature-dependent while others do not show temperature-dependent susceptibility and are highly resistant to multiple drugs.