

臨床材料より分離された黄色ブドウ球菌の薬剤感受性成績

永沢 善三・加悦みわ子・南雲 文夫
植田 寛・只野寿太郎

佐賀医科大学検査部*

加藤 収・山田 穂積
佐賀医科大学内科

(昭和 63 年 4 月 2 日受付)

佐賀医科大学附属病院検査室において 1983 年と 1986 年に分離された黄色ブドウ球菌の各種抗生物質に対する感受性を検討した。

臨床材料より分離された黄色ブドウ球菌の株数は 150 株 (1983 年) と 205 株 (1986 年) であった。薬剤は ampicillin (ABPC), cefazolin (CEZ), minocycline (MINO), gentamicin (GM), clindamycin (CLDM) の 5 剤を使用した。また 1986 年分離株については methicillin (DMPPC), oxacillin (MPIPC), dicloxacillin (MDIPC), cefmetazole (CMZ), cefmenoxime (CMX), cefuzonam (CZON), amikacin (AMK), ofloxacin (OFLX) の 8 剤を加えた。黄色ブドウ球菌の薬剤感受性試験は MIC-2000 システムによる微量液体希釈法と三濃度ディスク法で行なった。

1983 年と 1986 年の成績を比較すると, ABPC, CEZ, GM, CLDM に対する耐性菌 (MIC \geq 12.5 μ g/ml) の割合は 1983 年より 1986 年の方が大きかった。耐性率は ABPC が 18% から 50%, CEZ は 15% から 34%, GM は 20% から 27%, CLDM では 14% から 24% と増加傾向が認められた。なお, MINO に対する耐性菌 (MIC \geq 12.5 μ g/ml) は認められなかった。

一方, 1986 年に加えた他 8 薬剤に対する耐性率 (MIC \geq 12.5 μ g/ml) は DMPPC 26%, MPIPC 22%, MDIPC 5%, CMZ 9%, CMX 24%, CZON 17%, AMK 13%, OFLX 0.5% であった。

また, ディスク法による交差耐性検討の成績では β -ラクタム剤とアミノグリコシド系薬剤に交差耐性を示したものが全体の 46% を占め, CEZ 耐性菌 (Cefazolin-resistant *Staphylococcus aureus*: CRSA) は約 50% であった。

これらの成績から黄色ブドウ球菌の多剤耐性菌が急速に増加し, これら耐性菌の管理が臨床的に最も重要であることが示唆された。

Key words: 黄色ブドウ球菌, MRSA, 薬剤感受性, MIC-2000 system, コアグラマーゼ型

欧米では 1960 年代からメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA) およびアミノグリコシド剤を含む多剤耐性黄色ブドウ球菌による感染症が報告され¹⁻³⁾, 1970 年代後半には病院内感染の起炎菌として重要視されるようになった⁴⁻⁶⁾。また本邦では, 1980 年代はじめから多剤耐性黄色ブドウ球菌の増加が認められ^{7,8)}, その中でも methicillin (DMPPC), cefazolin (CEZ) などに高度耐性を示す MRSA, cefazolin-resistant *Staphylococcus aureus* (CRSA) の増加が報告されている⁹⁻¹⁰⁾。本邦における MRSA, CRSA の増加は, 近年の各種抗生物質,

特に第 3 世代のセフェム系の使用量の増加との関連性が強く示唆されている¹¹⁾。

今回我々は, 佐賀医科大学附属病院における MRSA を含む耐性ブドウ球菌の発現を検討する目的で, 1983 年分離株と 1986 年分離株を用い, 薬剤感受性成績, β -ラクタマーゼ産生の有無, コアグラマーゼ型別を検討したので報告する。

I. 材料と方法

菌株: 1983 年および 1986 年に佐賀医科大学附属病院検査部で臨床材料より分離された黄色ブドウ球菌 (1983 年 150 株, 1986 年 205 株) を用いた。なお黄色ブドウ

* 佐賀市鍋島町大字鍋島三本杉

球菌の同定は、コアグララーゼ試験および VITEK AMS を使用した。

抗菌性薬剤：以下の 13 種薬剤を用いた。ペニシリン系；ampicillin (ABPC), methicillin (DMPPC), oxacillin (MPIP), dicloxacillin (MDIPC), セフェム系；cefazolin (CEZ), cefmetazole (CMZ), cefmenoxime (CMX), cefuzonam (CZON), アミノグリコシド系；gentamicin (GM), amikacin (AMK), テトラサイクリン系；minocycline (MINO), ピリドンカルボン酸系；ofloxacin (OFLX), その他；clindamycin (CLDM)。

抗菌力測定：抗菌性薬剤の MIC 測定は MIC-2000 システム（日本ダイナテック社）による微量液体希釈法で実施した。各薬剤の倍数希釈系列は 0.025 $\mu\text{g/ml}$ から 50 $\mu\text{g/ml}$ の 12 段階を Mueller-Hinton broth (BBL, 以下 MHB と略す) を用いて作製し、同システムのディスペンサーで 96 個のウェルを有するマイクロプレートに無菌的に 0.1 ml ずつ分注し、 -80°C で保存した。MIC の測定は、プレート室温で解凍し、血液寒天培地で再分離した対象菌株の新鮮分離菌を MHB を用いて約 10^8 CFU/ml の菌液に調整した。この菌液を 10 倍希釈し、イノキュレーターで各ウェルに 0.0015 ml ずつ接種した。この方法での接種菌量は約 10^6 CFU/ml となる。菌液接種後、 30°C , 20 時間培養し各ウェル内の混濁を肉眼的に観察し、MIC を判定した。なお耐性株の判定は各種抗生剤とも MIC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の株とした。

ディスク法による抗菌力測定はトリディスク（栄研化学）を用い、Mueller-Hinton agar (BBL) を基礎培地として使用し、 30°C , 20 時間培養後判定した。

β -ラクタマーゼ活性の測定はニトロセフィン法を用いた。

コアグララーゼ型はコアグララーゼ型別用血清（デンカ生研）を使用した。

II. 成績

Fig. 1 に ABPC に対する薬剤感受性分布を示した。1983 年菌株と 1986 年菌株の ABPC 感受性成績は、それぞれ 1.56 $\mu\text{g/ml}$ と 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上に分布の最多がみられた。また MIC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株の頻度は 18% から 50% と 3 年間で約 3 倍の増加を示した。

Fig. 2 に CEZ に対する薬剤感受性分布を示した。1983 年菌株と 1986 年菌株の CEZ 感受性成績は、それぞれ 0.39 $\mu\text{g/ml}$ と 0.78 $\mu\text{g/ml}$ に分布の最多がみられた。また耐性菌出現率は 15% から 34% に増加した。

Fig. 3 に GM に対する薬剤感受性分布を示した。1983 年と 1986 年の成績の比較では、大きな分布の違いは認められなかったが、耐性菌の出現率は 20% から 27% と若干の増加がみられた。

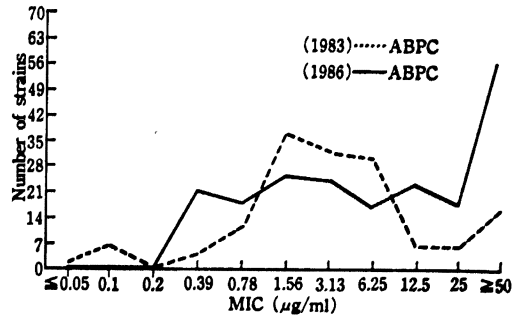


Fig. 1. Distribution of drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* (comparison of two studies performed in 1983 and 1986)

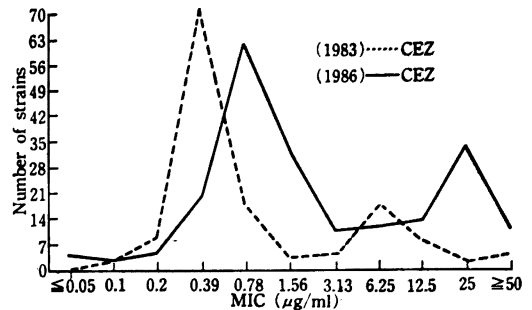


Fig. 2. Distribution of drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* (comparison of two studies performed in 1983 and 1986)

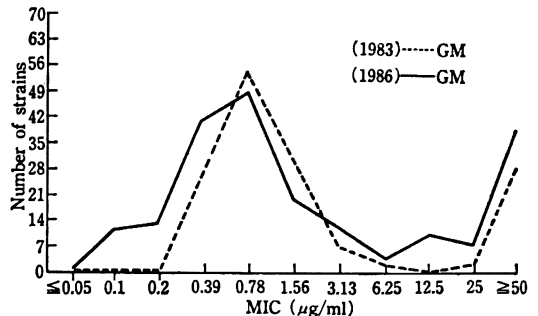


Fig. 3. Distribution of drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* (comparison of two studies performed in 1983 and 1986)

Fig. 4 に CLDM に対する薬剤感受性分布を示した。3 年間の感受性分布には大きな変化は認められなかったが、耐性菌の出現率は 14% から 24% となった。

Fig. 5 に MINO に対する薬剤感受性分布を示した。1983 年と 1986 年の感受性成績ではいずれも耐性株は認められなかった。

Fig. 6 に 1986 年分離の黄色ブドウ球菌 205 株の DMPPC, MPIP, MDIPC に対する薬剤感受性分布

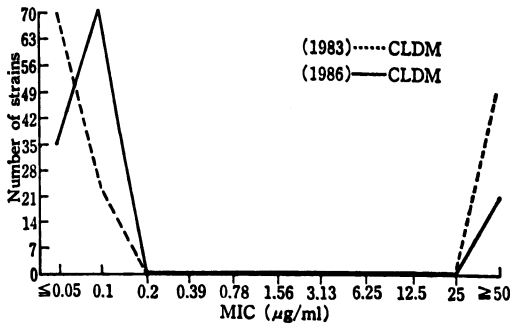


Fig. 4. Distribution of drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* (comparison of two studies performed in 1983 and 1986)

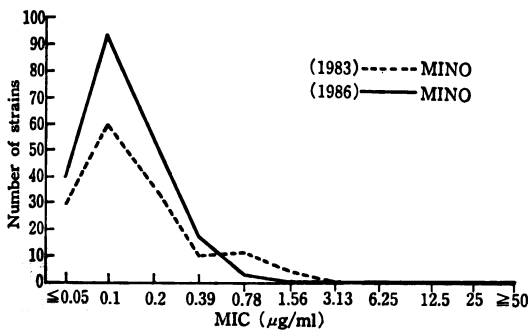


Fig. 5. Distribution of drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* (comparison of two studies performed in 1983 and 1986)

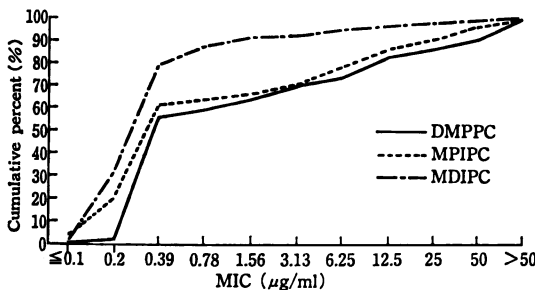


Fig. 6. Distribution of drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* (205 strains)

を示した。各薬剤の MIC 分布の最多は DMPPC, MPIP, MDIP とも 0.39 $\mu\text{g/ml}$ にあった。また, MIC 80% 値は DMPPC 12.5 $\mu\text{g/ml}$, MPIP 12.5 $\mu\text{g/ml}$, MDIP 0.78 $\mu\text{g/ml}$ であった。さらに MIC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性菌の出現率は DMPPC 26%, MPIP 22%, MDIP 5% であった。

Fig. 7 に 1986 年分離株の CMZ, CMX, CZON, AMK, OFLX に対する薬剤感受性分布を示した。各薬剤の MIC 分布の最多は CZON 0.1 $\mu\text{g/ml}$, OFLX 0.1

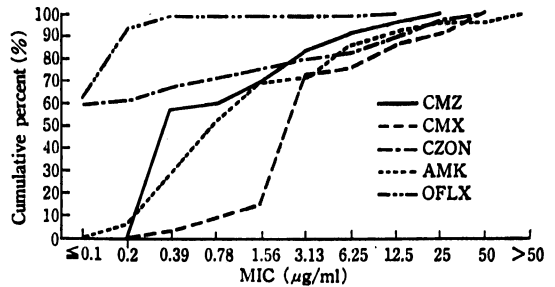


Fig. 7. Distribution of drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* (205 strains)

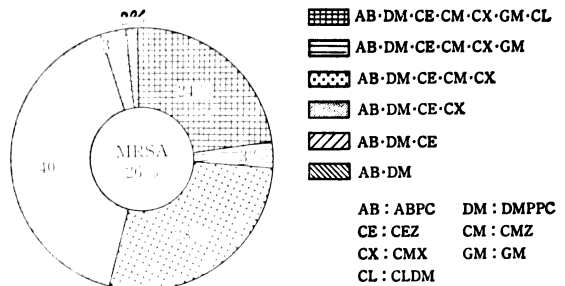


Fig. 8. Multiple drug-resistance tendency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ($\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$)

$\mu\text{g/ml}$, CMZ 0.39 $\mu\text{g/ml}$, AMK 0.39 $\mu\text{g/ml}$, CMX 3.13 $\mu\text{g/ml}$ にあった。また, MIC 80% 値は CMZ 3.13 $\mu\text{g/ml}$, CMX 12.5 $\mu\text{g/ml}$, CZON 3.13 $\mu\text{g/ml}$, AMK 6.25 $\mu\text{g/ml}$, OFLX 0.2 $\mu\text{g/ml}$ であった。さらに MIC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性菌の出現率は, CMZ 9%, CMX 24%, CZON 17%, AMK 13%, OFLX 0.5% であった。

Fig. 8 に DMPPC 耐性株 (MIC $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$) における交差耐性の状況を示した。1986 年分離の黄色ブドウ球菌 205 株で, DMPPC 耐性黄色ブドウ球菌の割合は 26% であったが, この DMPPC 耐性株の内ではペニシリン系のみ耐性 2%, ペニシリン系・セフェム系の 2 系統耐性 71%, ペニシリン系・セフェム系・アミノグリコシド系の 3 系統耐性 3%, ペニシリン系・セフェム系・アミノグリコシド系・クリンダマイシンなど多剤耐性は 24% であった。

Fig. 9 にトリディスク法で 1+ 以下の CEZ 耐性株における交差耐性の状況を示した。1986 年分離の黄色ブドウ球菌 205 株の内, CEZ 耐性株の割合は 39% であった。また交差耐性ではペニシリン系・セフェム系の 2 系統耐性 9%, ペニシリン系・セフェム系・アミノグリコシド系の 3 系統耐性 50%, ペニシリン系・セフェム系・アミノグリコシド系・テトラサイクリン系の 4 系統

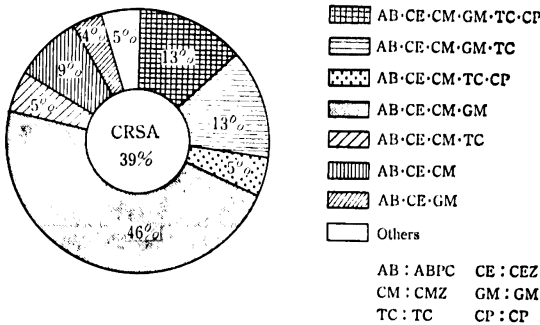


Fig. 9. Multiple drug-resistance tendency of cefazolin-resistant *Staphylococcus aureus* ($\leq 1+$)

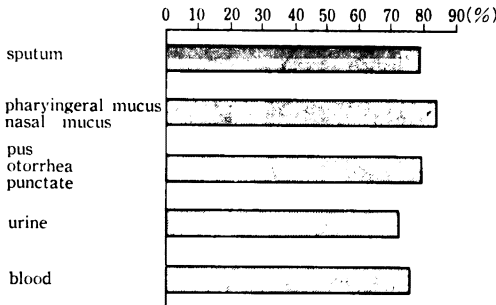


Fig. 10. Percentage of p-lactamase producing *Staphylococcus aureus* strains by sample

耐性 13%, ペニシリン系・セフェム系・アミノグリコシッド系・テトラサイクリン系・クロラムフェニコール系などの多剤耐性は 13% であった。

Fig. 10 に 1986 年分離の黄色ブドウ球菌 205 株の由来検体別にみた β -ラクタマーゼ産生率を示した。 β -ラクタマーゼの産生は硝ロセフィン法 (BBL 社) で行なった。 β -ラクタマーゼ産生株はいずれの検体でも 70% 以上あり、臨床材料別による大きな差は認められなかった。

Fig. 11 に 1983 年と 1986 年分離の黄色ブドウ球菌のコアグラーゼ型別を示した。1983 年分離の黄色ブドウ球菌 150 株では、II 型 29%, III 型 31%, IV 型 17%, VII 型 12% であった。1986 年分離の黄色ブドウ球菌 205 株では、II 型 33%, III 型 20%, IV 型 27%, VII 型 10% であり、1983 年と比較すると、II 型および IV 型の増加が認められた。なお、III 型は減少の傾向が見られた。

Fig. 12 に 1986 年分離の MRSA 53 株のコアグラーゼ型別を示した。MRSA 53 株のうち II 型が 64% と約半数を占め、次に IV 型の 18% であった。

III. 考 察

欧米では 1961 年、従来耐性ブドウ球菌に有効であった DMPPC や CEZ などに対して耐性を示す多剤耐

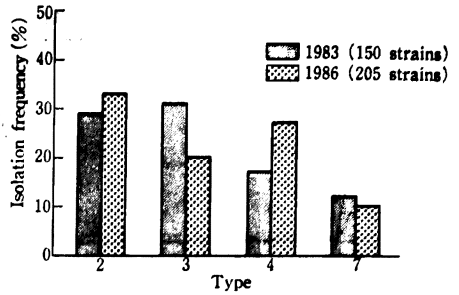


Fig. 11. Coagulase types of *Staphylococcus aureus* isolated in 1983 and 1986

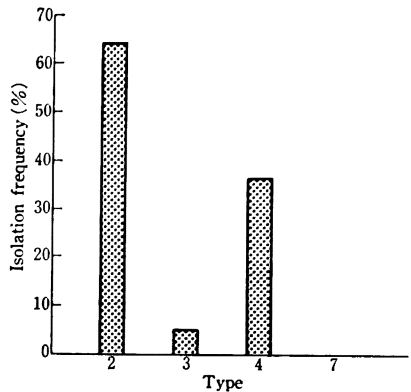


Fig. 12. Coagulase types of MRSA (53 strains) isolated in 1986

性黄色ブドウ球菌の存在が指摘された。本邦では 1976 年、紺野らにより多剤耐性黄色ブドウ球菌が報告され¹²⁾、その後も多剤耐性黄色ブドウ球菌が増加傾向にあることから、現在では臨床上大きな問題となっている。

今回我々は、1983 年と 1986 年に佐賀医科大学附属病院検査部で分離した黄色ブドウ球菌を対象に薬剤感受性を測定し、多剤耐性黄色ブドウ球菌の出現状況を検討した。

1983 年と 1986 年で比較すると、各種抗生剤に対する MIC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株の出現頻度は、ABPC 約 3 倍、CEZ 約 2 倍、GM 約 1.5 倍、CLDM 約 2 倍と明らかな増加を示した。

一般に耐性化の発現機序には、1) β -ラクタム薬剤の作用点である PBP (penicillin-binding protein) の突然変異による遺伝的耐性、2) ペニシリナーゼ産生プラスミッドによる耐性、3) アミノグリコシッド剤およびクロラムフェニコール剤系は 23S リボソーム RNA のメチル化による薬剤の結合阻止による耐性、4) テトラサイクリン剤系は薬剤の膜透過性の低下による耐性があると

報告されており¹⁸⁻¹⁹⁾、特に多剤耐性菌は、これらの耐性化機構のいくつかを同時に有している。

今回みられた黄色ブドウ球菌の耐性化の傾向は ABPC, CEZ, GM, CLDM に対して顕著であり、この機序には PBP, プラスミッド, リボソーム RNA のメチル化などの関与が考えられる。

今回の検討でみられた DMPPC 耐性株の中でペニシリン系とセフェム系の 2 系統薬剤に耐性を示したのは全体の 71% であったが、さらにペニシリン系・セフェム系・アミノグリコシド系・クリンダマイシンなどに同時に多剤耐性を示す菌株が全体の 24% も存在した。この多剤耐性菌の増加は臨床上大きな問題と思われる。

今回の薬剤感受性成績から、多剤耐性黄色ブドウ球菌の治療は諸家らの報告¹⁵⁻¹⁷⁾と同様に MINO および OFLX をはじめとするニューキノロン系薬剤が有効であり、また一部の株では MDIPC, CLDM なども有効と考えられる⁹⁾。また横田^{18,19)}は、MRSA 感染症に対する治療は、MINO 単独、MINO と β -ラクタム薬剤の併用、変化した PBP にもなお結合親和性を有する CMZ 単独または CMZ とホスホマイシン (FOM) の併用あるいは CZON と FOM の併用が望ましいと報告している。

一方、黄色ブドウ球菌のコアグラゼ型別では、II 型、IV 型が増加しており、他施設の報告と同様であった。

従来、多剤耐性黄色ブドウ球菌は主に院内感染による施設内流行株として報告されてきた。渡辺²⁰⁾は 1985 年以降 II 型が増加し、しかも MRSA で特に II 型が増加していることを指摘した。島田⁹⁾、松本²¹⁾らの報告にも II 型の MRSA が多く認められている。

近年の黄色ブドウ球菌の多剤耐性化は、全国的な成績を考慮すると II 型と IV 型の流行がその増加に関連しているとも考えられ、今後さらに検討を続けて行く必要があると思われる。

文 献

- 1) BENNER E J, NORTHLAND V: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* -Antimicrobial susceptibility. N Eng J Med 277: 678~680, 1967
- 2) JEVONS M P: "Carbenin"-resistant Staphylococci (Letter). Br Med J 1: 124~125, 1981
- 3) KAYSER F H, MAK T M: Methicillin-resistant Staphylococci. Am J Med Sci 264: 197~205, 1972
- 4) THOMPSON R L, GABEZUDO I, WENZEL R P: Epidemiology of nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Ann Intern Med 97: 309~317, 1982
- 5) SALAVOLATZ L D, POHLOD D J, ARKING L M: Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection: a new source for nosocomial outbreaks. Ann Intern Med 97: 325~329, 1982
- 6) LEVINE D P, CUSHING R D, JUL J, BROWN W: Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcal endocarditis in The Detroit Medical Center. Ann Intern Med 97: 330~338, 1982
- 7) 松本慶蔵, 工藤和治, 降形正和: 呼吸器感染症の起炎菌の流れとその意義。臨床成人病 13: 959~964, 1983
- 8) 渡辺 彰: 呼吸器感染症, 起炎菌の変貌と化学療法剤の使い方。クリニカ 12: 813~819, 1985
- 9) 島田 馨, 安達桂子, 田中喜久子, 上条仁子, 佐々木宗男, 島山 勤, 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
- 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 1 報: β -lactam 剤感受性について。Chemotherapy 32: 344~353, 1984
- 11) 林 泉: 臨床の立場から見た耐性菌の諸問題, 臨床と微生物 13: 165~173, 1986
- 12) 紺野昌俊: 病原菌の最近の推移: グラム陽性球菌。最新医学 31: 1306~1313, 1976
- 13) 山本達男: 黄色ブドウ球菌の薬剤耐性一耐性形質の伝達機構。臨床と細菌 7: 313~319, 1980
- 14) 井上松久: ブドウ球菌の薬剤耐性とその背景。医学のあゆみ 111: 881~887, 1979
- 15) 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: β -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: 517~525, 1984
- 16) 青木義雄, 片山紀美代, 小坂 論: 黄色ブドウ球菌薬剤感受性の年次的推移。臨床と微生物, 12: 97~106, 1985
- 17) 紺野昌俊: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌。メディアサークル 31: 257~270, 1986
- 18) 横田 健: 臨床に役立つ微生物の知識: ブドウ球菌。ライフサイエンス 76~79 頁, 1987
- 19) YOKOTA T, SUZUKI E, ARAI K: Cefuzonam, Its affinity to penicillin-binding proteins, stability against β -lactamases and synergy with minocycline or fosfomycin. 15th ICC. Abst. 127, July 19~24, 1987 (Istanbul)
- 20) 渡辺正治, 久保勢津子, 石山尚子, 島山靖子, 斎藤知子, 高橋公毅, 菅野治重, 陳 瑞明: 千葉大学附属病院における Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) の分離状況。Che-

motherapy 35 : 467~475, 1987
 21) 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 OF CLINICALLY ISOLATED STAPHYLOCOCCUS AUREUS TO ANTIMICROBIAL AGENTS

ZENZO NAGASAWA, MIWAKO KAETSU, FUMIO NAGUMO,
 HIROSHI UEDA and JUTARO TADANO

Clinical Laboratory, Saga Medical School
 Nabeshima Sanbonsugi, Nabeshima-cho, Saga 840-01, Japan

OSAMU KATOH and HOZUMI YAMADA

Department of Internal Medicine, Saga Medical School

In 1983 and 1986, we studied the susceptibility of *Staphylococcus aureus* to antimicrobial agents at the Clinical Laboratory of Saga Medical School Hospital. The organisms were isolated from clinical materials, and the former study (1983) included 150 and the latter (1986) 205 strains of *Staphylococcus aureus*. Five antimicrobial agents (ampicillin (ABPC), cefazolin (CEZ), minocycline (MINO), gentamicin (GM) and clindamycin (CLDM)) were tested in both studies. Eight other drugs (methicillin (DMPPC), oxacillin (MIPIC), dicloxacillin (MDIPC), cefmetazole (CMZ), cefmenoxime (CMX), cefuzonam (CZON), amikacin (AMK) and ofloxacin (OFLX)) were added to the latter study. The microdilution method, using the MIC-2000 system, and the triple concentration disk method were employed to determine the susceptibility of *Staphylococcus aureus* to each drug.

Comparing both studies, the percentage of the resistant strains ($MIC \geq 12.5 \mu\text{g/ml}$) against ABPC, CEZ, GM and CLDM was higher in 1986 than in 1983, increasing from 18 to 50% for ABPC, from 15 to 34% for CEZ, from 20 to 27% for GM and from 14 to 24% for CLDM. However, resistant strains against MINO were not detected in either study. In the latter study, the percentages of resistant strains were 26% for DMPPC, 22% for MIPIC, 5% for MDIPC, 9% for CMZ, 24% for CMX, 17% for CZON, 13% for AMK and 0.5% for OFLX. With the disk method, moreover, 46% of the total strains were resistant against both β -lactams and aminoglycosides. About 50% were resistant against CEZ (cefazolin-resistant-*Staphylococcus aureus*: CRSA).

These data suggest that multiple-resistant strains of *Staphylococcus aureus* are increasing rapidly, and that the management of these resistant strains may be of great clinical importance.