

最近分離した高度メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 の13薬剤に対する感受性

神田佳代子・横田健

順天堂大学医学部細菌学教室*

(昭和62年12月12日受付)

1987年1月から同年8月までの8か月間に、東京都内の大学病院で分離されたメチシリン耐性(MIC \geq 3.13)黄色ブドウ球菌64株のcefazolin, cefmetazole, cefuzonam, imipenem/cilastatin sodium, methicillin, gentamicin, arbekacin, rokitamycin, erythromycin, tetracycline, minocycline, ofloxacin, rifampicinに対する感受性を測定した。これら薬剤のMIC₅₀値は、rifampicin 0.025 μ g/ml, minocycline 0.39 μ g/ml, arbekacin 0.78 μ g/ml, tetracycline 3.13 μ g/ml, ofloxacin 6.25 μ g/mlであり、またMIC₈₀はrifampicin 0.05 μ g/ml, arbekacin 1.56 μ g/mlであった。その他の薬剤ではMIC₅₀およびMIC₈₀はいずれも25 μ g/ml以上であった。

以上の結果よりrifampicinおよびarbekacinは耐性菌が少なく高度なメチシリン耐性黄色ブドウ球菌に有効な薬剤と考えられたが、rifampicinは耐性mutantが出現しやすいことから、この種のMRSAにはarbekacinの有用性が高いであろう。

Key words: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌, MRSA, 薬剤感受性

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌は、我が国でも1980年以降着実に増加傾向を示している¹⁾。本菌は、メチシリンのみならず、セフェム系薬剤、その他アミノ配糖体系、ラトラサイクリン系、マクロライド系薬剤などにも耐性を示し、適切な薬剤が少ないことから臨床問題となっている²⁾。また本菌は、近年院内感染原因菌のみならず、院外患者からも同程度分離されるようになり、起炎菌として重視されて来ている³⁾。

今回我々は、東京都内の大学病院で分離されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の分与を受けたので、黄色ブドウ球菌に比較的強い抗菌力を示すとされている13薬剤を選択し、これら薬剤の抗菌力を比較した。

I. 実験材料および方法

菌株:1987年1月より同年8月までの8か月間に、東京都内の大学病院で分離されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)64株を使用した。検体の由来は、外科系の腹部ドレーンおよび内科系の気管支切開部であった。

抗生物質:以下に示す13薬剤の力価の明らかなものを使用した。ペニシリンおよびセファロsporin系; cefazolin (CEZ), cefmetazole (CMZ), cefuzonam (CZON), imipenem/cilastatin sodium (IPM/CS), methicillin (DMPPC), アミノ配糖体系; arbekacin

(HBK), gentamicin (GM), マクロライド系; erythromycin (EM), rokitamycin (RKM), テトラサイクリン系; tetracycline (TC), minocycline (MINO), その他 ofloxacin (OFLX), rifampicin (RFP)。

薬剤感受性測定法:DMPPC 3.13 μ g/ml 含有 heart infusion 寒天培地(Difco)に被験菌を塗布し、発育したものをMRSAとして使用した。L-broth(11当りDifco Bacto-Tryptone 10g, Difco, Yeast Extract 5g, NaCl 5gを含む。pH 7.6)で37°C, 24時間培養した菌液を用い、以下日本化学療法学会標準法に準じ、感受性を測定した。菌液を10⁶ cfu/mlに調整し、マイクロプランター(佐久間製作所)にて、薬剤含有Mueller-Hinton 寒天培地(Difco)に接種し、37°C一液培養後、発育阻止濃度(MIC)を求めた。薬剤濃度は、100 μ g/mlから2倍系列希釈して0.013 μ g/mlまでの14階段とした。

II. 成績

Table 1に感受性分布を、Fig. 1にその累積分布を示した。

1. ペニシリン・セフェム系薬剤の抗菌力
IPM/CSのMICは0.05~100 μ g/mlに幅広く分布し、そのピークは0.05 μ g/mlの感受性群と50 μ g/mlの耐性群の二峰性分布を示した。CEZ, CMZ, CZONお

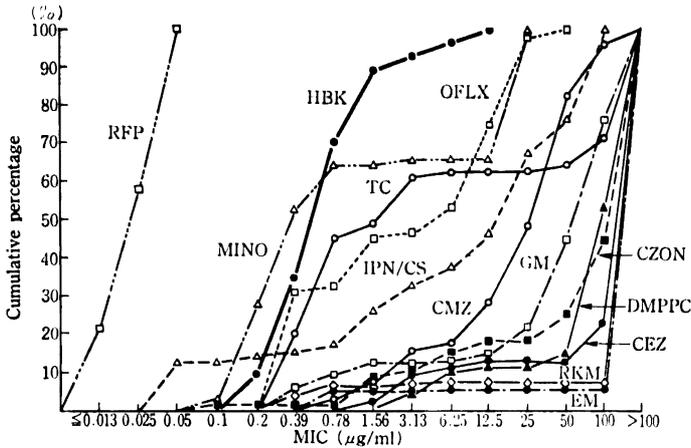
* 東京都文京区本郷 2-1-1

Table 1. Sensitivity distribution of methicillin-resistant *S. aureus*

Antibiotic** (group)	No. of strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)*												MIC ₅₀	MIC ₉₀							
		≤ 0.013	0.025	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25			50	100	>100				
Penicillin-cephems	CEZ											1	5	1	1			7	49	>100	>100	
	CMZ										2	3	5	1	7	13	22	9	2	50	50	
	CZON				1							4	2	3	2		4	13	35	>100	>100	
Aminoglycosides	IPM/CS			8		1	1	1			1	6	4	3	6	7	15	12		25	100	
	DMPPC												3	4	1	1	1	25	30	100	>100	
	GM							4	2	2					1	5	15	20	15	100	>100	
Macrolides	HBK					6	16	23	2	3	2										0.78	1.56
	RKM								3	1											>100	>100
	EM								4												>100	>100
Tetracyclines	TC								13	16	2	8	1				1	5	18	3.13	>100	
	MINO				1	17	16	7	1							22				0.39	25	
Others	OFLX								20	1	8	1	4	14	15	1				6.25	25	
	RFP																			0.025	0.05	

* Minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined by the two fold serial dilution method with Mueller-Hinton agar.

** Abbreviations for antimicrobial agents: CEZ (cefazolin), CMZ (cefmetazole), CZON (cefazotam), IPM/CS (imipenem/cilastatin sodium), DMPPC (methicillin), GM (gentamicin), HBK (arbekacin), RKM (rokitamycin), EM (erythromycin), TC (tetracycline), MINO (minocycline), OFLX (ofloxacin), RFP (rifampicin).



Abbreviations are as defined in footnote to Table 1

Fig. 1. Cumulative sensitivity of 64 strains of methicillin-resistant *S. aureus* to 13 antimicrobial agents

よび DMPPC では、その MIC 値は主に 0.78 $\mu\text{g/ml}$ 以上に分布し、ピークはいずれも 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上であった。これら 5 薬剤の MIC₅₀ 値は IPM/CS で 25 $\mu\text{g/ml}$, CMZ で 50 $\mu\text{g/ml}$, CZON, CEZ および DMPPC ではないずれも 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上であった。

2. アミノ配糖体およびマクロライド系薬剤の抗菌力
HBK は 0.78 $\mu\text{g/ml}$ に MIC のピークを有し、RKM, EM, GM に比べ優れた抗菌力を示した。GM, EM, RKM ではないずれも 0.39~0.78 $\mu\text{g/ml}$ と 100~100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の二峰性分布を示したが、そのほとんどは 100 $\mu\text{g/ml}$ ~100 $\mu\text{g/ml}$ 以上に分布していた。これら 4 薬剤の MIC₅₀ 値は HBK 0.78 $\mu\text{g/ml}$, GM 100 $\mu\text{g/ml}$, EM, RKM ではそれぞれ 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上であった。

3. テトラサイクリン系およびその他の薬剤の抗菌力
RFP の MIC 分布は 0.013 以下~0.05 $\mu\text{g/ml}$ で、比較した 13 薬剤の中で最も優れた抗菌力を示した。OFLX の MIC 分布は、0.39 $\mu\text{g/ml}$ と 12.5~25 $\mu\text{g/ml}$, TC では 0.78 $\mu\text{g/ml}$ と 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上、MINO では 0.2~0.39 $\mu\text{g/ml}$ と 25 $\mu\text{g/ml}$ にそれぞれ二峰性のピークを示した。これら薬剤の MIC₅₀ はそれぞれ RFP で 0.025 $\mu\text{g/ml}$, OFLX で 6.25 $\mu\text{g/ml}$, TC で 3.13 $\mu\text{g/ml}$, MINO で 0.39 $\mu\text{g/ml}$ であった。

III. 考 察

MRSA に対する薬剤感受性については、既に多くの報告がある。MRSA の分離頻度や、薬剤感受性は、施設で使用されている薬剤により異なるため⁴⁾、新しい臨床分離株を用いて、薬剤感受性の動向を調べる必要がある。我々は本年中に東京都内の病院で分離された

MRSA の分与を受ける機会を得たので、黄色ブドウ球菌に比較的抗菌力を示す薬剤として、CEZ, CMZ, CZON, IPM/CS, GM, HBK, RKM, EM, TC, MINO, OFLX および RFP を選び、抗菌力を比較した。MIC₅₀ の比較から、RFP>MINO>HBK>TC>OFLX>IPM/CS>CMZ の順に強い抗菌力が認められ、その他の薬剤の抗菌力はいずれも弱かった。

我々は MRSA の耐性機序に関する研究から、MRSA はムレイン架橋形成酵素である penicillin binding protein (PBP)-2 の他に分子密度 78 K ダルトンの β -ラクタム剤に結合親和性の低い新しい PBP-2' を形成していることを明らかにした⁵⁾。したがって MRSA は薬剤存在下でも、PBP-2' がムレイン架橋酵素として働き、細胞壁合成ができるために β -ラクタム剤に耐性となるものと考えられている。CMZ⁵⁾ および最も新しい第 3 世代のセフェム剤である CZON⁶⁾ は、高濃度で PBP-2' に結合親和性を有し、他のペニシリン、セフェム剤と異なることから、MRSA にある程度の抗菌力を示してきた。カルバペネム系である IPM/CS は PBP-3 を強くおさえるため⁷⁾、その理由は不明の点もあるが、今回の成績ではある程度の抗菌力を発揮した。

ある病院で MRSA の認識があまくその治療法が適切でないとい、PBP-2' の産生量の多い菌が次々に選択され、CMZ, CZON, IPM/CS 等にも感受性の低い菌が増加する。これが院内感染として拡大するので、深刻な事態になることは今回の例で明らかである。

HBK は dibekacin の 1 位アミノ基に 4-amino-hydroxybutyric acid 基を有する新しいアミノ配糖体で、

黄色ブドウ球菌の産生する各種アミノ配糖体不活性化酵素に対して安定であるため、GM や AMK 耐性菌に強い抗菌力を示すことが明らかにされている⁹⁾。また MRSA の多くの株が産生するアミノ配糖体不活性化酵素は、従来より知られている黄色ブドウ球菌の産生するアミノ配糖体不活性化酵素と同じで、これら酵素に対して HBK は他のアミノ配糖体系抗生物質より安定である⁹⁾。今回調べた CMZ 等に耐性を示す MRSA に対しても HBK は優れた抗菌力を示したが、これは本剤がβ-ラクタム系でなく、また MRSA の多くの産生する不活性化酵素にも安定であることによるものと考えられる。

MRSA は、染色体上の遺伝子変化でペニシリン系およびセフェム系薬剤に耐性であるのみならずプラスミドによりアミノ配糖体系、テトラサイクリン系、マクロライド系薬剤にも耐性を示すことが知られている⁹⁾。多くの MRSA は、CMZ, CEZ, CZON などにはなおある程度の感受性を示し、これらに FOM を併用すると、治療可能なことが多い。また、免疫低下が著しくなければ MINO でも治療可能である。しかし、MRSA への対策が不十分で、MRSA に作用しがたい第3世代セフェムを不用意に汎用すると、PBP-2' 産生量の多い株が連続的に選択されるため、今回使用した菌株のような高度耐性菌が増加する。これらの株には、TC, OFLX でも感受性と耐性の明らかな二峰性のピークが認められ、耐性菌が存在した。

MRSA 感染症に対しては、この菌の存在を知り、適切に対処すれば、免疫正常者では MINO, 免疫正常者のみならず免疫不全者でも FOM と CMZ または CZON の併用で、治療できることが現在でも少なくない。不注意に高度耐性株を増加させた病院では RFP または HBK の必要があろう。しかし、RFP は耐性変異株が出現しやすいことから¹⁰⁾、高度耐性 MRSA 感染症に対しては HBK が有用な薬剤と思われる。

文 献

1) 島田 馨, 安達桂子, 田中喜久子, 上条仁子, 佐

々木宗男, 轟山 勲, 稲松孝思, 清山京子: 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薬剤に対する感受性。Chemotherapy 31: 835~841, 1983

- 2) 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, 黒須義字, 杉田守正, 堀誠, 保科定頼, 黒坂公生, 永井高史, 篠原紀子, 小坂 論, 片山紀美子, 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
- 3) 伊藤 章: 耐性菌の疫学的検索—市中病院—。臨床と微生物 13: 155~164, 1986
- 4) 渡辺 彰, 大泉耕太郎, 今野 淳, 井田士朗, 西岡きよ: 多剤耐性黄色ブドウ球菌に関する研究(Ⅲ)。多剤耐性黄色ブドウ球菌分離率の病院間較差, 検体間差およびβ-lactamase産生能との相関。Chemotherapy 35: 699~708, 1987
- 5) 横田 健: メチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌, 基礎編。感染, 炎症, 免疫 14: 87~97, 1984
- 6) 横田 健, 吉田玲子, 鈴木映子, 新井京子: L-105の抗菌力, β-lactamase安定性, Penicillin結合蛋白質への親和性および補体・白血球との協力的殺菌作用。Chemotherapy 34(S-3): 17~34, 1986
- 7) 横田 健, 丸山映子, 鈴木映子, 新井京子, 加藤尚代: Imipenem (MK-0787)の試験管内抗菌力, β-lactamase不活化作用, ペニシリン結合蛋白質親和性及びマウス脳と腎ホモジネートに対する安定性。Chemotherapy 33(S-4): 43~53, 1985
- 8) 山下直子, 生方公子, 野々口律子, 後藤 朗, 松下真理, 紺野昌俊: アミノ配糖体系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
- 9) 松橋祐二, 山本治夫: メチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌に産生するアミノ配糖体抗生物質不活性化酵素に関する研究。Jap. J. Antibiotics 投稿中
- 10) MOORMAN, D. R. and MANDELL, G. L.: Characteristics of rifampicin-resistant variants obtained from clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 20: 709~713, 1981

SUSCEPTIBILITY OF RECENTLY ISOLATED HIGHLY
METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS*
AUREUS TO 13 ANTIMICROBIAL AGENTS

KAYOKO KANDA and TAKESHI YOKOTA

Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University
Hongo 2-1-1, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

Against 64 strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA, MIC \geq 3.13 μ g/ml) isolated in a Tokyo university hospital between January and August 1987, the antibacterial activity of the antimicrobial agents, cefazolin, cefmetazole, cefuzonam, imipenem/cilastatin sodium, methicillin, gentamicin, arbekacin, rokitamycin, erythromycin, tetracycline, minocycline, ofloxacin, and rifampicin was determined. The MIC₅₀ values of rifampicin, minocycline, arbekacin, tetracycline and ofloxacin were, respectively, 0.025, 0.39, 0.78, 3.13 and 6.25 μ g/ml, and the MIC₈₀ values of rifampicin and arbekacin were 0.05 and 1.56 μ g/ml. The MIC₅₀ and MIC₈₀ values of the other drugs were over 25 μ g/ml. There were thus fewer MRSA strains resistant to rifampicin and arbekacin, indicating that both drugs are effective against highly methicillin-resistant *S. aureus* strains. However, since rifampicin is likely to induce mutant strains, arbekacin may be preferable against high-grade MRSA infections.