

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対する殺菌消毒剤の殺菌効力

杉 浦 朗・中村 和世・城野久美子・東出 栄治
株式会社 武田分析研究所*

(平成元年9月13日受付・平成元年11月24日受理)

1987～1988年に数カ所の施設で分離された methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 58株ならびに感性 *S. aureus* 17株 (MSSA) について、抗菌剤の最小発育阻止濃度 (MIC)、ペニシリナーゼ産生性、コアグララーゼ型を調べて菌株の性状を明らかにするとともに、これらの菌株に対する現在病院で常用されている殺菌消毒剤の有効濃度を測定した。

MRSA に対するメチシリン (DMPPC) の MIC は感受性測定時の温度の影響を受け、DMPPC では 72%、CEZ では 76% の菌株が、MIC (37°C) 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性を示した。これらの MRSA のコアグララーゼ型は II 型が 64%、IV 型が 9% で最近の型別分布の頻度を反映していた。

これらの供試菌株に対する塩化ベンザルコニウム (BAC)、グルコン酸クロルヘキシジン (CHG)、ポビドンヨード (PDI)、グルタルアルデヒド (GTA)、エタノール (EtOH) の殺菌効力と DMPPC 感受性との間に関係は認められず、MRSA に対しても通常の *S. aureus* の殺菌消毒と同様にそれぞれの殺菌消毒剤の作用特性に応じた使用方法で殺菌可能である。また、*S. aureus* のコアグララーゼ型と殺菌消毒剤の効力の間にも関係は見出されなかった。BAC の殺菌効力を高めるために、0.01 w/v% Na_2CO_3 を併用すると、30秒作用で BAC 0.005 w/v% 以下、また 20 v/v% EtOH を併用すると BAC 0.05 w/v% 以下ですべて殺菌され、BAC の殺菌速度が早い特性とあわせて院内環境および手指などの殺菌消毒に有効な方法である。

Key words : MRSA, 塩化ベンザルコニウム, 殺菌消毒剤, 殺菌効力, コアグララーゼ型

細菌感染症の治療剤として、 β -ラクタム系薬剤が中心を占めるようになり、いわゆる第3世代セフェム系薬剤の使用が増えるにつれ、methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) の感染^{1) 2)}が問題となっている。MRSA は多剤耐性で治療できる薬剤が限定される上、ブドウ球菌が強毒性であるため、その対応を誤ると予後は悪い。MRSA 感染症は院内の伝播力が強く、未熟児や老人、また免疫不全状態の患者に発症することが多く、早期に正しい検査を行ない、それを増加させないための防止策が極めて重要である。一方、MRSA が殺菌消毒剤に対しても抵抗性を示すという報告^{3) 4)}もあるが、多数の臨床分離 MRSA に対する殺菌消毒剤の効力の実態を調査した報告はほとんどみられない。本報では、1987～1988年に数カ所の施設で分離された MRSA 58株ならびに感性 *S. aureus* (MSSA) 17株について、抗菌剤の最小発育阻止濃度 (MIC)、ペニシリナーゼ産生性、コアグララーゼ型を調べて菌株の性状を明らかにするとともに、これらの菌株に

に対する現在病院で常用されている殺菌消毒剤の有効濃度を測定した。

I. 実験材料および方法

1. 供試薬剤

抗菌剤はメチシリン (DMPPC, 萬有製薬)、セファゾリン (CEZ, 藤沢薬品)、アンピシリン (ABPC, 武田薬品)、クロキサシリン (MCIPC, 藤沢薬品)、カナマイシン (KM, 武田薬品)、トブラマイシン (TOB, 塩野義製薬) およびゲンタマイシン (GM, エッセクス日本) を、殺菌消毒剤は、陽イオン界面活性剤の塩化ベンザルコニウム (BAC, オスバン液, 日本製薬, 10 w/v%), ビグアナイド系のグルコン酸クロルヘキシジン (CHG, ヒビテン・グルコネート液, 住友化学, 20 w/v%), アルデヒド系のグルタルアルデヒド (GTA, ステリハイド, 丸石製薬, 20 w/v%), ヨード系のポビドン・ヨード (PDI, イソジン液, 明治製薬, 10 w/v%), 有効ヨウ素 75

*大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号

Table 1-1. Susceptibility to antibiotics, penicillinase productivity and coagulase type of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Strain no.	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										Penicillinase productivity	Coagulase type		
	DMPPC		CEZ		ABPC		MCIPC		KM				TOB	GM
	(30°C)	(40°C)	(30°C)	(40°C)	(37°C)	(40°C)	(37°C)	(37°C)	(37°C)	(37°C)				
TS-110	200	12.5	0.78	100	50	6.25	25	3.13	800	200	50	+	II	
TS-108	800	12.5	1.56	100	50	6.25	12.5	0.10	800	12.5	12.5	+	IV	
TY-1799	800	12.5	1.56	200	25	1.56	12.5	1.56	1,600	50	50	+	VI	
TY-1807	800	12.5	1.56	200	25	0.78	12.5	0.78	1,600	25	50	+	VI	
TS-133	800	12.5	3.13	200	50	12.5	25	0.10	800	12.5	12.5	+	IV	
TS-92	1,600	12.5	3.13	200	50	6.25	12.5	3.13	>1,600	50	100	+	VI	
TS-157	200	25	6.25	200	50	12.5	12.5	0.78	>1,600	50	50	+	IV	
TS-140	400	25	3.13	200	100	25	25	6.25	400	200	25	+	II	
TS-162	400	25	6.25	200	50	12.5	6.25	6.25	400	100	25	+	II	
TS-163	1,600	25	3.13	200	50	6.25	12.5	3.13	>1,600	100	400	+	VI	
TS-142	1,600	25	6.25	200	200	25	6.25	200	50	50	0.10	-	II	
TS-153	1,600	25	6.25	200	100	12.5	>100	0.39	50	50	0.10	+	II	
TS-137	400	50	6.25	100	50	12.5	12.5	6.25	400	100	25	+	-	
TY-1847	800	50	6.25	400	200	25	12.5	0.39	50	50	0.10	+	II	
TY-1796	800	50	12.5	200	200	50	12.5	0.20	200	50	0.10	+	II	
TS-96	1,600	50	3.13	200	50	6.25	25	0.78	>1,600	25	50	+	VI	
TY-1800	800	100	3.13	200	200	25	12.5	0.39	50	50	0.10	+	II	
TY-1449	1,600	100	12.5	400	100	25	6.25	0.10	1,600	100	100	-	VI	
TS-113	800	200	0.78	100	50	50	3.13	0.20	100	100	0.10	+	-	
TS-131	800	200	12.5	200	50	6.25	12.5	0.10	100	100	12.5	+	VI	
TS-136	800	200	50	100	50	50	6.25	200	400	100	25	+	II	
TS-120	1,600	200	6.25	200	100	25	25	0.39	200	200	25	+	II	

DMPPC : methicillin, CEZ : cefazolin, ABPC : ampicillin, MCIPC : cloxacillin, KM : kanamycin, TOB : tobramycin, GM : gentamicin

Table 1-2. Susceptibility to antibiotics, penicillinase productivity and coagulase type of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Strain no.	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)										Penicillinase productivity	Coagulase type					
	DMPPC					ABPC											
	(30°C)	(37°C)	(40°C)	(30°C)	(37°C)	CEZ	(40°C)	(30°C)	(37°C)	ABPC			(37°C)	MCIPC	KM	TOB	GM
TS-132	1,600	200	12.5	400	100	25	6.25	0.20	200	100	25	0.10	200	100	25	—	II
TS-122	100	400	12.5	200	100	200	3.13	1.56	100	200	200	0.10	100	200	0.10	—	III
TS-139	800	400	25	200	100	50	25	0.20	400	100	50	25	400	100	25	+	II
TS-135	800	400	100	100	100	50	25	100	400	100	50	50	400	100	50	+	II
TS-123	1,600	400	3.13	200	100	100	12.5	0.78	200	800	200	25	200	800	25	+	II
TS-148	1,600	400	3.13	100	100	50	12.5	6.25	800	200	25	25	800	200	25	+	II
TS-107	1,600	400	6.25	200	100	50	12.5	0.20	400	100	50	12.5	400	100	12.5	+	II
TS-119	1,600	400	6.25	100	100	50	12.5	6.25	100	200	50	0.10	100	200	0.10	+	II
TS-111	1,600	400	12.5	200	100	50	12.5	12.5	1,600	100	50	100	1,600	100	100	+	II
TS-115	1,600	400	12.5	400	200	100	100	25	100	100	100	0.10	100	100	0.10	+	II
TS-146	1,600	400	12.5	200	200	25	12.5	200	>1,600	800	25	400	>1,600	800	400	+	II
TS-151	1,600	400	12.5	200	200	50	12.5	400	>1,600	1,600	50	400	>1,600	1,600	400	+	II
TS-159	1,600	400	25	400	100	12.5	25	0.20	200	200	200	25	200	200	25	+	II
TS-154	1,600	400	50	200	100	50	6.25	1.56	400	50	50	50	400	50	50	—	II
TS-141	800	800	200	200	200	100	6.25	1.56	50	50	100	0.10	50	50	0.10	—	II
TS-138	800	800	400	200	200	200	6.25	400	100	50	200	6.25	100	50	6.25	—	III
TS-121	1,600	800	3.13	200	200	100	50	12.5	50	25	25	3.13	50	25	3.13	+	II
TS-144	1,600	800	25	200	200	25	25	1.56	100	50	200	0.10	100	50	0.10	+	—
TS-152	1,600	800	25	200	200	50	6.25	200	400	100	25	25	400	100	25	—	II
TY-1798	1,600	800	25	200	200	50	12.5	12.5	25	1.56	25	3.13	25	1.56	3.13	+	II
TS-130	1,600	800	200	200	100	100	12.5	25	200	100	200	50	200	100	50	+	—
TS-149	1,600	800	200	200	200	50	12.5	25	400	200	200	25	400	200	25	+	II

DMPPC : methicillin, CEZ : ceftazolin, ABPC : ampicillin, MCIPC : cloxacillin, KM : kanamycin, TOB : tobramycin, GM : gentamicin

Table 1-3. Susceptibility to antibiotics, penicillinase productivity and coagulase type of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Strain no.	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										Penicillinase productivity	Coagulase type		
	DMPPC		CEZ		ABPC		MCIPC		KM				TOB	GM
	(30°C)	(37°C)	(40°C)	(30°C)	(37°C)	(40°C)	(37°C)	(37°C)	(37°C)	(37°C)				
TS-158	1,600	800	200	400	100	100	25	0.10	>1,600	200	200	0.39	+	V
TY-1852	1,600	800	400	400	200	200	6.25	12.5	1,600	50	50	100	-	II
TS-65	>1,600	800	200	400	200	200	25	400	400	800	800	50	+	II
TY-1760	1,600	1,600	100	400	200	100	25	0.39	200	100	100	12.5	+	II
TS-127	1,600	1,600	400	400	200	200	12.5	200	50	50	50	0.10	-	II
TS-150	1,600	1,600	400	200	200	200	6.25	25	400	50	50	25	-	II
TS-134	1,600	1,600	1,600	400	400	400	25	1,600	1,600	>1,600	>1,600	50	+	II
TY-1806	>1,600	1,600	200	400	200	200	12.5	50	800	12.5	12.5	25	-	II
TS-161	>1,600	1,600	800	400	400	400	12.5	200	1,600	400	400	50	-	III
N 64	>1,600	1,600	1,600	400	400	200	25	0.10	800	400	400	0.10	+	II
TS-128	>1,600	1,600	1,600	400	400	400	12.5	1,600	100	100	100	6.25	-	III
TY-1857	>1,600	1,600	1,600	400	400	400	12.5	400	1,600	25	25	50	-	II
TS-156	1,600	>1,600	>1,600	200	400	400	12.5	12.5	200	100	100	3.13	-	II
TY-1859	>1,600	>1,600	1,600	400	400	400	12.5	1,600	>1,600	50	50	100	-	II

DMPPC : methicillin, CEZ : cefazolin, ABPC : ampicillin, MCIPC : cloxacillin, KM : kanamycin, TOB : tobramycin, GM : gentamicin

Table 2. Susceptibility to antibiotics, penicillinase producibility and coagulase type of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*

Strain no.	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					Penicillinase producibility	Coagulase type
	DMPPC	CEZ	ABPC	MCIPC	GM		
FDA 209 P	3.13	0.78	0.10	0.10	0.10	-	VI
N8	3.13	0.78	0.10	0.10	0.10	+	III
TY-1185	3.13	1.56	1.56	0.39	0.10	+	VII
TY-1188	3.13	0.78	0.10	0.20	0.10	-	-
TY-1191	3.13	0.78	1.56	0.39	0.05	+	VII
TY-1196	6.25	6.25	0.78	0.39	25	-	IV
TY-1202	3.13	0.78	1.56	0.20	50	-	II
TY-1209	1.56	0.39	0.05	0.20	0.10	-	IV
TY-1435	3.13	3.13	1.56	0.39	0.05	+	VI
TY-1436	3.13	0.78	12.5	0.39	0.10	+	II
TY-1454	3.13	0.78	0.20	0.39	6.25	-	VII
TY-1756	3.13	0.39	3.13	0.39	0.10	+	-
TY-1761	6.25	6.25	25	0.39	100	+	V
TY-1770	3.13	0.78	1.56	0.39	25	-	V
TY-1846	3.13	0.39	0.20	0.39	0.39	-	-
TY-1849	6.25	3.13	50	0.39	25	+	IV
TY-1858	1.56	0.78	12.5	1.56	0.39	+	-

DMPPC : methicillin, CEZ : cefazolin, ABPC : ampicillin, MCIPC : cloxacillin, GM : gentamicin

mg/ml), およびエタノール (EtOH, 和光純薬, 99.5%) を使用した。

2. 使用菌株

臨床分離株として1987年～1988年に数カ所の施設ならびに東京総合臨床検査センターから入手した *Staphylococcus aureus* 74株, 標準株として *Staphylococcus aureus* FDA 209P の計75株を使用した。なお, 培養温度を37°CとしたときのDMPPCのMICが12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の株をMRSAとし, その他をMSSAとした。

3. 最小発育阻止濃度の測定

日本化学療法学会標準法¹²⁾に従い, ミューラーヒントン寒天 (Difco) を用いた寒天平板希釈法で測定した。接種菌量は 10^8 cfu/mlとし, MRSAに関してはDMPPCとCEZは30, 37および40°Cで, その他については37°Cでそれぞれ18時間培養後判定した。

4. ペニシリナーゼ産生性

トリプティケースソイ寒天 (BBL) 平板上のコロニーについて, ニトロセフィンディスク (セフィナー

ゼ, BBL) を使用して確認した。また, ニトロセフィンディスクでペニシリナーゼ陰性となった菌株のうちMRSAについては, ペニシリンGを基質としてマイクロよう素法¹³⁾で測定し, ペニシリナーゼ産生性の有無を確認した。すなわち, 対数期の菌液にジクロキサシリンを0.5 $\mu\text{g/ml}$ になるように添加し, 37°Cで2時間振とう培養した後, 遠心分離によって得た上清についてペニシリナーゼ活性を測定した。またさらに, 菌体については, 50mMりん酸緩衝液 (pH 6.9) に懸濁し, 超音波破碎した後, この全液についてペニシリナーゼ活性を測定した。

5. コアグララーゼ型別

コアグララーゼ型別用血清 (デンカ生研) を用いて行なった。

6. 殺菌濃度の測定

衛生検査指針の石炭酸係数測定法¹⁴⁾を省力化するため96穴マイクロプレートおよび10 μl の滅菌プラスチックウェル (Nunc., デンマーク) を使用したMTP法¹⁵⁾で各薬剤の殺菌濃度を測定した。すなわち, 薬剤

の滅菌精製水希釈系列を調製し、その250 μ lをマイクロプレートの各ウェル (350 μ l容量) に分注し、その中にミューラーヒントン液体培地 (Difco) 中、35°C、1夜培養後、滅菌生理食塩水で希釈した試験菌液を Stepper[®] (Tridak, Indican, Inc., U. S. A) 付き滅菌注射用シリジンで10 μ lずつ接種して作用液中で10⁶ cfu/mlとした。接種後ただちに滅菌した藁楊枝でよく混合し、25°Cで所定時間作用後、プラスチックエーゼで10 μ lをSCDLP培地ダイゴ (Soybean-Casein Digest with Lecithin & Polysorbate 80, 日本製薬) 3 mlに移し、35°C、72時間培養した。培養後菌の発育の認められない最小濃度を殺菌濃度とした。

II. 実験結果

1. 薬剤感受性

供試菌株の薬剤感受性、ペニシリナーゼ産生性およびコアグララーゼ型別を Table 1 および Table 2 に示した。MRSA では、培養温度37°CでのDMPPCおよびCEZのMICは、それぞれ12.5 ~ >1,600 μ g/ml および12.5 ~ 400 μ g/ml に分布し、MICが100 μ g/ml以上の耐性株はDMPPCでは72%、CEZでは76%であった。また、DMPPCのMICが培養温度によって大きく影響を受け、低温側で耐性化し、30°Cと40°CのMICに1,000倍以上の差が認められる株もあった。CEZにおいても同様の傾向が認められた。これに対し、ABPCとMCIPCのMICはDMPPCやCEZのMICとの関連性は認められず、ABPCでは25 μ g/ml以下の株が95%を占め、100 μ g/ml以上の高度耐性株は3%であった。またMCIPCでは0.2 μ g/ml以下の高感性株が21%あり、100 μ g/ml以上の耐性株は24%であった。さらに、アミノ配糖体系抗生物質の場合、KM、TOBに対してはほとんどの株が耐性であったが、GMに対してはMIC 0.39 μ g/ml以下の感性株が24%あり、 β -ラクタム剤に対する感受性との関連性は認められなかった。

2. ペニシリナーゼ産生性とコアグララーゼ型別

供試MRSA58株の71%がペニシリナーゼ産生株であったが、DMPPC感受性との関連性は認められなかった。一方、MSSAの場合はペニシリナーゼ産生株は53%であり、MRSAよりも若干低い傾向が認められた。また、ABPC感受性とペニシリナーゼ産生性とは関連する傾向は認められたが、 β -ラクタム剤感受性とGM感受性との間に関連性は認められなかった。次にコアグララーゼ型は、MRSAではII型が64%と最も多く、これに対し、MSSAでは各型に分布した。しかし、コアグララーゼ型と薬剤感受性との間

に関連性は認められなかった。

3. 殺菌消毒剤の殺菌濃度

MTP法により25°C、30秒ならびに10分間作用の殺菌濃度を調べ、それぞれの菌株についてDMPPCのMICに対して殺菌消毒剤の殺菌濃度をプロットした (Figs. 1 ~ 5)。これらの結果からみると、殺菌消毒剤の効力は菌株のDMPPCに対する耐性度とは関係のないことが認められた。すなわちBACの殺菌濃度は、供試75株について水中10⁶cfu/ml、30秒作用のとき0.01 ~ >0.5%、10分作用のとき74株は<0.05%で殺菌されたが、3株は0.2%を要した。その3株のDMPPCのMICは25,400および800 μ g/mlで、MIC 1,600 μ g/ml以上の株はいずれもBAC <0.05%で殺菌され、DMPPCに対する感受性とは関係がなかった。次にCHGの殺菌濃度は、いずれの菌株に対しても30秒作用では>0.5%、10分作用では0.005 ~ 0.5%であった。PDIは、30秒作用では0.1 ~ >10%、10分作用ではすべての供試菌株を<1%で殺菌した。市販品に添加されたアルカリ緩衝剤で希釈したGTAの殺菌濃度は、30秒作用では0.01 ~ 2%、10分作用では0.01 ~ 0.1%であった。EtOHでは、30秒作用では71株が80%、6株が>80%を要したが、10分作用すると20 ~ 80%ですべての供試菌が殺菌された。これら調査した5種の殺菌消毒剤の殺菌効力は、DMPPCに対する感受性の低い株に対しても強い場合、また逆に感受性が高い株に対しても弱い場合が認められた。一方、これら殺菌消毒剤の殺菌濃度を供試菌株のコアグララーゼ型別に対してプロットしたが (Figs. 6 ~ 10)、この間にも関係は見出されなかった。

4. 殺菌効力の増強

前項でBACの殺菌濃度が、30秒作用で0.1%以上を要し、抵抗性を示した11株について、それぞれ単独では殺菌作用の認められない濃度の0.01%、0.05% Na₂CO₃ならびに10%、20% EtOHを併用したときのBACの殺菌濃度を測定した。それぞれの菌株毎に、精製水中の殺菌濃度に対してNa₂CO₃を併用したときの殺菌濃度をプロットした Fig. 11から、精製水中30秒作用でBAC 0.5%を要したいずれの菌株も0.01% Na₂CO₃を併用することによって、BAC 0.005%以下で殺菌されることが認められた。一方、EtOHは、30秒作用において、10%では併用効果が弱かったが、20%になるとBAC 0.05%以下で殺菌作用が認められた (Fig. 12)。

III. 考察

MRSAが臨床分離黄色ブドウ球菌の10%以上にな

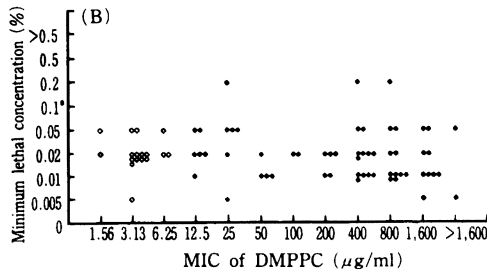
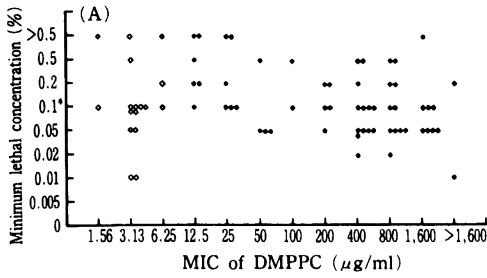


Fig. 1. Correlation between minimum lethal concentrations of benzalkonium chloride and MIC of methicillin to *Staphylococcus aureus*

The minimum lethal concentrations were determined after 30 sec (A) or 10 min (B) contact with the antiseptic or the disinfectant at 25°C in deionized water.

Symbols : \diamond , MSSA ; \blacklozenge , MRSA ; *, the concentration commonly used

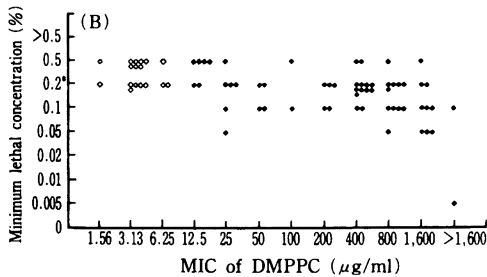
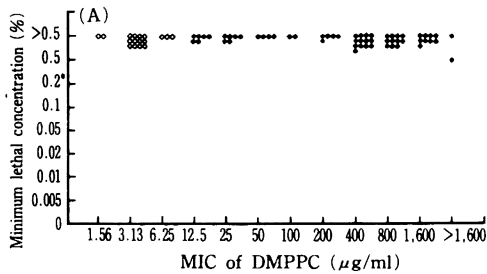


Fig. 2. Correlation between minimum lethal concentration of chlorhexidine gluconate and MIC of methicillin to *Staphylococcus aureus*

See the footnote to Fig. 1.

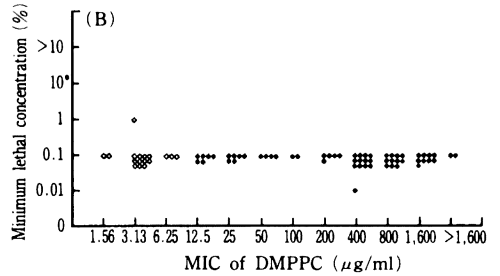
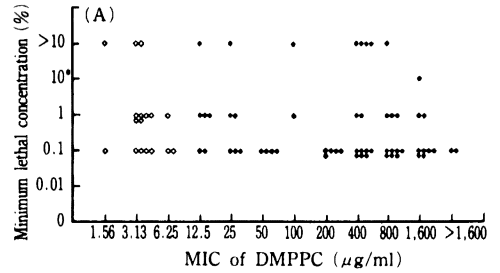


Fig. 3. Correlation between minimum lethal concentration of povidone-iodine and MIC of methicillin to *Staphylococcus aureus*

See the footnote to Fig. 1.

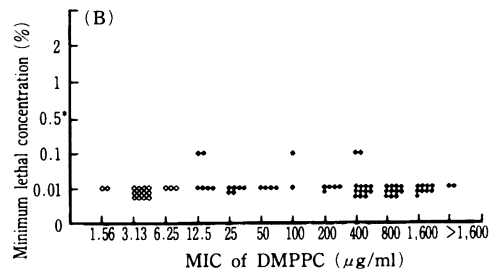
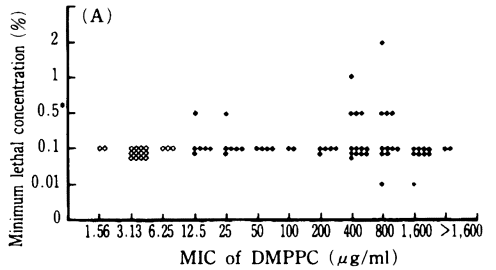


Fig. 4. Correlation between minimum lethal concentration of glutaraldehyde and MIC of methicillin to *Staphylococcus aureus*

See the footnote to Fig. 1.

るとその対策が容易でなくなる¹⁶⁾といわれている。医師、看護婦の鼻咽喉頭粘膜や手指から MRSA が検出されており、医療従事者の汚染防止の意識の向上により、手指消毒、手洗いの励行ならびに汚染環境、機

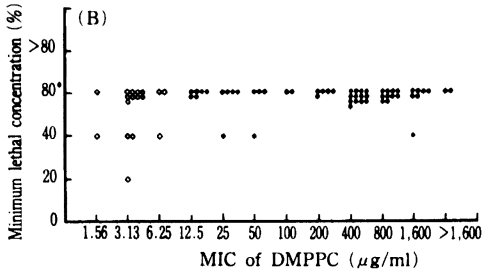
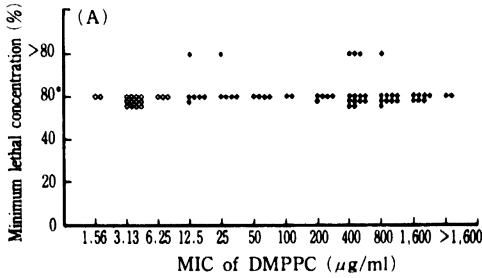


Fig. 5. Correlation between minimum lethal concentration of ethanol and MIC of methicillin to *Staphylococcus aureus*
See the footnote to Fig. 1.

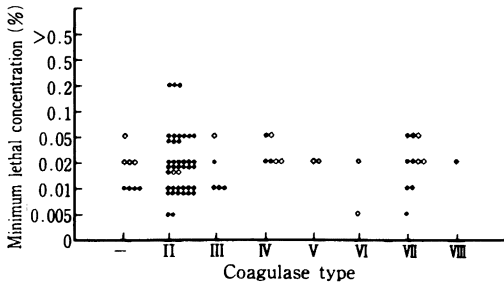


Fig. 6. Correlation between minimum lethal concentration of benzalkonium chloride and coagulase type of *Staphylococcus aureus*
The lethal concentrations were determined after 10 min contact with the antiseptic or the disinfectant at 25°C in deionized water.
Symbols : ◇, MSSA ; ◆, MRSA.

器、器材の殺菌が嚴重に行なわれると伝播を少なくすることができる。MRSA に対する殺菌消毒法の指標が示されると、實際面での対応が容易になるが、そのためには現在使用されている殺菌消毒剤の MRSA に対する殺菌効力を調査する必要がある。最近、MRSA に対する殺菌消毒剤の効果について報告されるようになり、MRSA の中に 4 級アンモニウム塩耐性プラスミドを有する株⁸⁻¹¹⁾が認められたが、その耐性度はいずれも最小発育阻止濃度 (MIC) でみて、感性株の 2~4 倍程度の差である。しかし、殺菌消毒

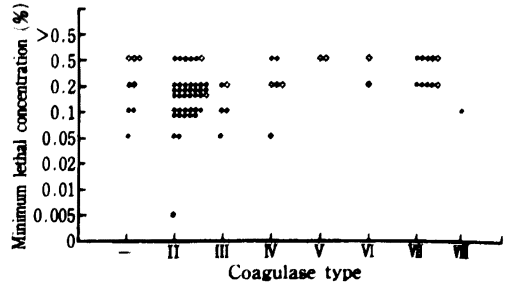


Fig. 7. Correlation between minimum lethal concentration of chlorhexidine gluconate and coagulase type of *Staphylococcus aureus*
See the footnote to Fig. 6.

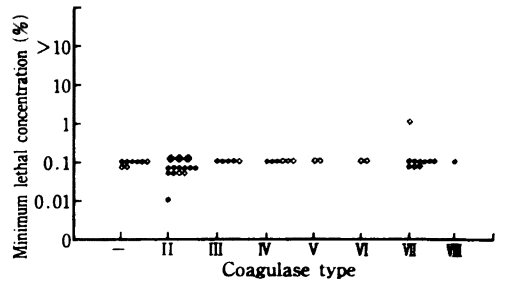


Fig. 8. Correlation between minimum lethal concentration of povidone-iodine and coagulase type of *Staphylococcus aureus*

The lethal concentrations were determined after 10 min contact with the antiseptic or the disinfectant at 25°C in deionized water.

Symbols : ◇, MSSA ; ◆, MRSA. A small square and a large square shows one strain and ten strains, respectively.

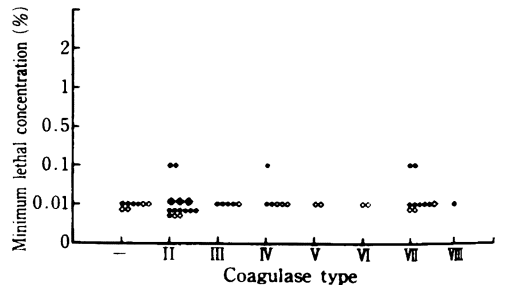


Fig. 9. Correlation between minimum lethal concentration of glutaraldehyde and coagulase type of *Staphylococcus aureus*
See the footnote to Fig. 8.

剤の殺菌濃度を多数の臨床分離 MRSA について調査した報告はみられない。

1987~1988 年度に分離された MRSA 58 株はセブ

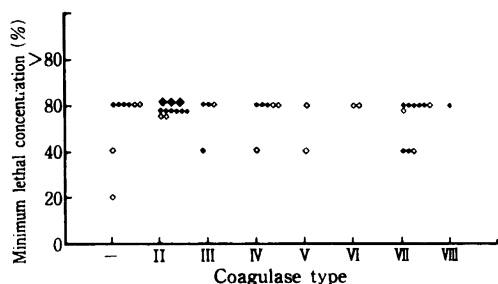


Fig. 10. Correlation between minimum lethal concentration of ethanol and coagulase type of *Staphylococcus aureus*

See the footnote to Fig. 8.

ム剤の CEZ, アミノ配糖体の KM, TOB に対してほとんどの株が耐性を示し, コアグラゼ II 型が半数以上を占め, 最近の型別分布の頻度²⁾を反映していた。それぞれの菌株についてペニシリナーゼ産生性ならびにコアグラゼ型をしらべたが, β -ラクタム剤感受性との間に関連性は認められなかった。これら MRSA ならびに MSSA 75 株に対する 5 種の殺菌消毒剤の殺菌濃度は, 抗菌剤に対する感受性とはまったく関係なく, 特に MRSA が殺菌消毒剤に対して抵抗性を示すということはなかった。横田⁹⁾, 小林¹⁶⁾らも MRSA の殺菌消毒には通常殺菌消毒剤の使用法を守ることによって殺菌消毒が可能と述べている。

殺菌消毒剤の殺菌効果は作用濃度と作用時間の関係が重要であるが, 供試した 5 種の殺菌消毒剤の常用濃度からみると, 30 秒および 10 分作用でそれぞれの生残率は, BAC (0.1%) では 35%, 4%, CHG (0.2%) では 100%, 25%, GTA (0.5%) では 3%, 0, PDI (10%) では 15%, 0, EtOH (約 80%) では 8%, 0 であった。GTA, PDI の 10 分作用では, それぞれ 0.1%, 1% でもすべて死滅したが, EtOH の場合は 10 分作用も 30 秒作用と同濃度の 80% を要した。実際の使用濃度での殺菌速度からみると器具用の GTA を除くと EtOH が最も早く, ついで高濃度 (10%) で使用できる PDI であり, 局所用の薬剤が早かった。一方, 手洗い用などに使用する BAC, CHG を比較すると殺菌速度に著しい差がみられ, BAC は 30 秒作用でも有効な菌株が多かったが, CHG は短時間作用ではほとんど殺菌効果を期待することができなかった。一般に, 殺菌消毒剤はグラム陰性菌に対するよりもグラム陽性菌に対して作用時間が遅い¹⁵⁾傾向が認められており, 今回調査した MRSA についても殺菌消毒の作用時間を重要視しなければならない。また, 殺菌消毒剤に対する抵抗性菌の存在が知られてい

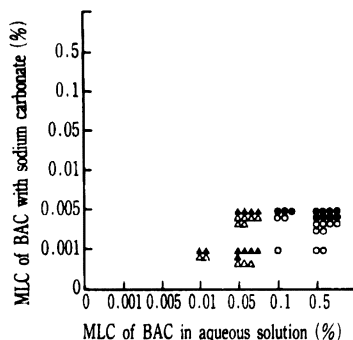


Fig. 11. Effect of sodium carbonate to lethal activity of benzalkonium chloride

The minimum lethal concentrations (MLCs) were determined after 30 sec (○, ●) or 10 min (△, ▲) contact with the benzalkonium chloride (BAC) solution at 25°C. The concentration of sodium carbonate added to benzalkonium chloride solution was 0.01% (●, ▲) or 0.05% (○, △).

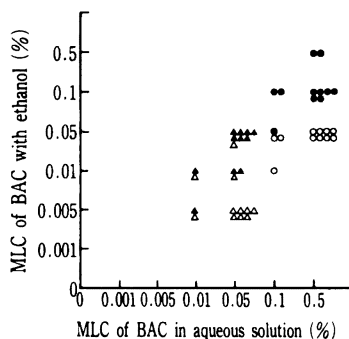


Fig. 12. Effect of ethanol to lethal activity of benzalkonium chloride

The minimum lethal concentrations (MLCs) were determined after 30 sec (○, ●) or 10 min (△, ▲) contact with the benzalkonium chloride (BAC) solution at 25°C. The concentration of ethanol added to benzalkonium chloride solution was 10% (●, ▲) or 20% (○, △).

るが, そのほとんどがグラム陰性菌である¹⁷⁻²⁰⁾。我々はグラム陰性菌が精製水中のような貧栄養培地中で BAC ならびに CHG に対して抵抗性を獲得する²¹⁾ことを報告した。一方, グラム陽性菌は精製水中では生存を続けることができず, 試験管内で抵抗性菌を得ることができなかったが, このことが自然界でも抵抗性菌の報告が少ないことと関連すると考えられる。グラム陰性菌ではプラスミドの関連についてはいまだ示

されておらず²⁰⁾、グラム陽性菌とグラム陰性菌で4級アンモニウム塩耐性機構が異なることも考えられる。一方、4級アンモニウム塩耐性プラスミドを有するMRSAの耐性度は、BACのMICでみて10 µg/ml程度であり¹⁰⁾、BACの常用濃度0.1% (1,000 µg/ml)からは特に実用上耐性菌として問題にならないのではないかと考えられる。

BACは毒性が弱く、無色、無臭で使用しやすい殺菌消毒剤であるが、その殺菌効力を高める方法として、アルカリ性溶液、またはアルコール添加が有効²¹⁾であった。MRSAのうちBACに抵抗性の高い菌株に対しても0.01% Na₂CO₃あるいは20% EtOHを併用すると常用濃度以下のBACの短時間作用で殺菌効果が得られ、MRSAの感染防止のために有効に作用するものと考えられる。

これらの結果から、MRSAの殺菌消毒は通常の*S. aureus*の殺菌消毒と同様にそれぞれの殺菌消毒剤の作用特性に応じた使用方法²²⁾で殺菌可能であることが認められた。例として、皮膚面などの局所には消毒用アルコール、ポビドンヨードの塗布、手洗いのためには20%エタノールを添加した0.1%塩化ベンザルコニウム溶液約5mlを手の掌にとって30秒以上揉み洗いし水洗する方法、環境や器具などは0.01% Na₂CO₃を添加した0.5%塩化ベンザルコニウム液または0.5%グルタルアルデヒド緩衝剤溶液に1時間程度接触させるなどの方法があげられる。

謝 辞

本研究に際し臨床分離菌株を分与いただきました東京総合臨床検査センター 出口浩一先生、研究の遂行に当たりご援助いただきました日本製薬株式会社に厚く御礼申し上げます。また実験にご協力下さいました高山 保氏、熊田陽子氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 横田 健, 松本慶蔵編: MRSA 感染症, ライフ・サイエンス, 東京, 1986
- 2) 松本慶蔵, 高橋 淳, 穴戸晴美, 渡辺貴和夫, 力富直人, 鈴木 寛, 吉田俊昭: 本邦における病原性の明確な黄色ブドウ球菌-4年間の薬剤感受性とcoagulase型別の変化-. Chemotherapy (Tokyo) 37: 549~562, 1989
- 3) 永井 勲, 大ヶ瀬浩史, 村瀬光春, 新家敏之, 三宅寿美, 中村慶子, 飯田 豊, 武政二郎: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) による院内感染の現状. 防菌防黴 16: 375~378, 1988
- 4) 神田佳代子, 横田 健: 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. Chemotherapy (Tokyo) 36: 289~293, 1988
- 5) 紺野昌俊, 生方公子, 山下直子, 松下真理, 川上

- 小夜子, 増田真理子, 野々口律子: 薬剤耐性型とファージ型から見たメチシリン耐性黄色ブドウ球菌について. 感染症学誌 59: 1029~1040, 1985
- 6) 横田 健: MRSA 感染症. 臨床検査 32: 770~775, 1988
- 7) MYCOCK G: Methicillin/antiseptic-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet ii, 949~950, 1985
- 8) TOWNSEND D E, ASHDOWN N, GREED L C, GRUBB W B: Transposition of gentamicin resistance to staphylococcal plasmids encoding resistance to cationic agents. J. Antimicrob. Chemother. 14: 115~124, 1984
- 9) TENNENT J M, LYON B R, GILLESPIE M T, MAY J W, SKURRAY R A: Cloning and expression of *Staphylococcus aureus* plasmid-mediated quaternary ammonium resistance in *Escherichia coli*. Antimicrob. Agents Chemother. 27: 79~83, 1985
- 10) AL-MASAUDI S B, DAY M J, RUSSEL A D: Sensitivity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains to some antibiotics, antiseptics and disinfectants. J. Appl. Bacteriol. 65: 329~337, 1988
- 11) YAMAMOTO T, TAMURA Y, YOKOTA T: Antiseptic and antibiotic resistance plasmid in *Staphylococcus aureus* that possesses ability to confer chlorhexidine and acrinol resistance. Antimicrob. Agents Chemother. 32: 932~935, 1988
- 12) 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 (Tokyo) 29: 76~79, 1981
- 13) 小此木研二, 木田 誠, 土屋峻司, 米田雅彦: Mecillinam の大腸菌に対する抗菌力およびβ-lactamase に対する態度. Chemotherapy (Tokyo) 25: 94~99, 1977
- 14) 厚生省編, 衛生検査指針 I: 協同医書出版社, 東京, 1952, pp.38~50
- 15) 城野久美子, 上村都美子, 久野光造, 東出栄治: 塩化ベンザルコニウム及びグルコン酸クロルヘキシジンの殺菌力と殺菌速度. 薬誌 105: 751~759, 1985
- 16) 小林寛伊: 薬事日報, 昭和63.8.25
- 17) 中野愛子: 逆性石鹼液中で増殖する細菌について. 日細菌 15: 1269~1274, 1960
- 18) MARRIE T J, COSTERSON J W: Prolonged survival of *Serratia marcescens* in chlorhexidine. Appl. Environ. Microbiol. 42: 1093~1102, 1981
- 19) BERKELMAN R L, ANDERSON R L, DAVIS B J, HIGSMITH A K, PETERSON N J, BOND W W, COOK D C, MACKEL D C, FEVERO M S, MARTONE W J: Intrinsic bacterial contamination of a commercial iodophor solution: investigation of the implicated manufacturing plant. Appl. Environ. Microbiol. 47: 752~756, 1984

- 20) RUSSELL A D, GOULD G W: Resistance of Enterobacteriaceae to preservatives and disinfectants. J. Appl. Bacteriol. 65: 167S ~ 195S, 1988
- 21) 城野久美子, 東出栄治: 塩化ベンザルコニウム及びグルコン酸クロルヘキシジンに対する細菌の抵抗性。防菌防黴 14: 541 ~ 550, 1986
- 22) 日本薬剤師会編: 院内における消毒剤の使用指針, 薬事日報社, 東京, 1987

BACTERICIDAL ACTIVITY OF ANTISEPTICS AND DISINFECTANTS AGAINST METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

AKIRA SUGIURA, KAZUYO NAKAMURA, KUMIKO JONO and EIJI HIGASHIDE

Takeda Analytical Research Laboratories Ltd., 17-85, Jusohonmachi, 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka 532, Japan

We determined the susceptibility to antibiotics, producibility of penicillinase and coagulase typing of 75 strains of *Staphylococcus aureus* isolated during 1987 to 1988. Among the 75 strains, 58 were methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and 17 were methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA). The effective concentration of antiseptics or disinfectants commonly used in hospitals against these strains was evaluated.

The minimum inhibitory concentrations (MICs) of methicillin (DMPPC) to MRSA were influenced by incubation temperature. The ratios of the resistant strains to which the MICs of DMPPC and cefazolin were more than 100 $\mu\text{g/ml}$ at 37°C were 72% and 76%, respectively. The distribution of coagulase type of the MRSA was similar to recent investigations: the percentages of coagulase type II and IV strains were 64% and 9%.

No relationship between the lethal activity of benzalkonium chloride, chlorhexidine gluconate, povidone-iodine, glutaraldehyde and ethanol to the strains used and the susceptibility to DMPPC or coagulase type was observed. *Staphylococcus aureus*, even MRSA, can be killed by the antiseptics and the disinfectants mentioned above when they are used properly. Benzalkonium chloride, in combination with 0.01% sodium carbonate or 20% ethanol, showed synergy for all strains used; the lethal concentration of benzalkonium chloride, at a contact time of 30 sec, was less than 50 $\mu\text{g/ml}$ or 500 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Hence these combinations were effective for disinfection or sterilization to prevent nosocomial infection by MRSA.