

MRSA 感染症に対する imipenem/cilastatin sodium と cefotiam の併用療法

—併用療法施行直前に患者から分離した MRSA の細菌学的検討—

松田 耕二¹⁾・原田 文吾¹⁾・柴田 兼良¹⁾・真田 実¹⁾中川 晋¹⁾・井上 松久²⁾・島田 馨³⁾¹⁾ 萬有製薬つくば研究所創薬研究所*²⁾ 北里大学医学部微生物学³⁾ 東京大学医科学研究所感染免疫内科

(平成4年1月8日受付・平成4年3月10日受理)

Methicillin 耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 感染症に対して, 1989年7月から1990年10月まで, imipenem/cilastatin sodium (IPM/CS) と cefotiam (CTM) の併用療法を多施設で施行し, その併用療法施行直前に採取可能であった42株のMRSAの細菌学的な性状を検討した。感受性試験では, ほとんどの β -ラクタム剤に高度耐性であった。また, すべての菌株が tobramycin (TOB) 耐性で, 73.8%の株が gentamicin (GM) にも耐性であった。IPM/CTM 併用では, すべての株が FIC index 0.5以下の相乗効果を示した。IPM/CS (0.5g/0.5g) と CTM (2g) の30分間点滴静注3時間後の血中濃度で発育阻止領域に入る菌は, IPM 単独では24%の菌が, CTMとの併用では90%に, CTM 単独では4%の菌が, IPMとの併用では59%にそれぞれ発育阻止領域が併用により拡大した。コアグラマーゼ型別では, II型とIII型で全体の8割を占めた。71.2%の株が TSST-1 toxin を産生し, エンテロトキシンC型が多く見られた。全体の半数の菌が, β -ラクタマーゼ非産生型であり, 耐性値も β -ラクタマーゼ産生菌のMIC₅₀が12.5 μ g/mlに対して非産生型のそれは50 μ g/mlと高かった。ファージ型別は, 型別不能菌が62%を占め, 次いで混合型が21.4%であった。耐性発現は, 典型的な Hetero 型を示す株が31%, Homo 型を示す株が45%であった。今回, 多施設で分離されたMRSAは, コアグラマーゼII型, エンテロトキシンC型, TSST-1産生でHomo型という極めて治療に難渋する菌株が多かったにもかかわらず, 総合臨床効果で有効率76.5%を示したのは, この併用療法がMRSA感染症に有用であることを裏付けている。また, 相乗効果の出る菌は自己溶菌しやすく, この併用に自己溶菌活性が関わっていることが示唆された。

Key words: MRSA, imipenem, cefotiam, 併用療法, 細菌学的性状

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は, β -ラクタマーゼに安定なメチシリンが世に出て, まもなく1961年にその報告がある¹⁾。しかし, 今日のような分離頻度の急増加は1980年代の初期以降で, グラム陽性菌に比較的弱い抗菌力を持った, いわゆる第三世代セフェムが大量に使用されたことが一因とされている²⁻⁴⁾。これらのMRSAの耐性機構は, 外来性の mecA 遺伝子にコードされた, β -ラクタム剤に弱い親和性を示す, 新規な PBP 2' (PBP 2a) の産生^{5,6)}による。しかし, 今日のように, 多剤・高度耐性化したのは, 別の遺伝子 fem A の変異によることが Berger-Bächi らによって示唆されている^{7,8)}。 β -ラクタマーゼの存在が PBP 2' の安定性に関与していることなど⁹⁾,

その耐性発現はきわめて複雑である¹⁰⁾。このように多剤・高度耐性で, 複雑な遺伝的制御を受けているMRSAに対して, 単剤での治療は難しく, 様々な併用療法が報告されている¹¹⁻¹⁴⁾。しかし, fosfomycin (FOM) と cefmetazole (CMZ), IPM/CS と cefazolin (CEZ) の例を除いて, 実際の治療効果を報告した例は少ない。IPM/CS と CTM の併用療法について *in vitro*, *in vivo* の基礎的な実験結果を踏まえ^{12,13)}, 1989年7月から1990年10月まで, 多施設による臨床応用が試みられた。臨床効果については, 別報で詳しく述べてあるので, ここでは, 併用療法開始直前に得られたMRSA 42株の細菌学的な性状について報告する。

* 茨城県つくば市つくばテクノパーク大穂, つくば市大久保3

I. 実験材料と方法

1. 菌株

1989年7月から1990年10月までに、MRSA感染症と診断され、IPM/CTM併用療法の開始直前に患者から分離し得た42株の黄色ブドウ球菌を用いた。

2. 使用薬剤

Imipenem (IPM), methicillin (DMPPC), ampicillin (ABPC), cloxacillin (MCIPC, 萬有製薬), cefotiam (CTM, 武田薬品工業), cefmetazole (CMZ, 三共), cefzonam (CZON), minocycline (MINO, 日本レダリー), cefoperazone (富山化学), ofloxacin (OFLX, 第一製薬), ciprofloxacin (CPFX, バイエル薬品), tobramycin (TOB, 塩野義), gentamicin (GM), vancomycin (VCM), rifampicin (RFP, シグマ) を用いた。

3. 感受性測定

薬剤感受性測定法はミューラーヒントン寒天培地 (MHA, Difco) を用い、日本化学療法学会標準法¹⁵⁾ により測定した。ただし、 β -ラクタム剤の感受性測定では、培地に4%のNaClを添加した¹⁶⁾。

4. *In vitro* 併用効果

In vitro 併用効果はMHA培地を用いたチェス盤寒天平板希釈法を用いた。併用効果はFractional inhibitory concentration index (FIC index), すなわち

$$\frac{\text{併用時の薬剤 A の MIC}}{\text{単独時の薬剤 A の MIC}} + \frac{\text{併用時の薬剤 B の MIC}}{\text{単独時の薬剤 B の MIC}}$$

FIC index が ≤ 0.5 を相乗効果, $0.5 < \text{FIC index} \leq 1.0$ を相加効果, $1.0 < \text{FIC index} \leq 2.0$ を不関, $2.0 < \text{FIC index}$ を拮抗作用とした。

5. β -ラクタマーゼ産生能

β -ラクタマーゼは、ニトロセフィンを用いた発色法により測定した¹⁷⁾。96穴のマイクロプレートにニトロセフィン溶液 (0.25 mg/ml 燐酸緩衝液 pH 7.0) 100 μ l を入れ、それに被検菌の一夜培養コロニーを懸濁させ、30分後と20時間後に判定し、黄色から赤色に変化したものを陽性とした。

6. コアグララーゼ型別

コアグララーゼ型別は、デンカ生研のコアグララーゼ型別用抗血清を用い、中和反応により実施した。

7. ファージ型別

ファージ型別は国際型別用ファージセットの23種のファージを用い、井上、大久保の方法に従って型別を行った¹⁸⁾。

8. TSST-1 毒素産生能

TSST-1毒素産生能は、デンカ生研のブドウ球菌TSST-1検出用キットTST-RPLA「生研」を用いた

逆受身ラテックス凝集反応により検出した。

9. エンテロトキシン型別

エンテロトキシン型別は、デンカ生研のブドウ球菌エンテロトキシン検出キットSET-RPLA「生研」による逆受身ラテックス凝集反応により、AからDまでの4つの型別に分別した。

10. ポピュレーション分析

MRSAのポピュレーション分析は、Tomaszら¹⁹⁾の方法に従った。ただし、選択薬剤として、DMPPCの代わりにIPMを使用した。ミューラーヒントンブロス (MHB, Difco) で37°Cで5時間培養した菌液の10倍希釈系列を作り、その0.1 mlを種々の濃度のIPM (0.006 μ g/ml から 1,600 μ g/ml) の入ったMHA培地に塗抹し、37°Cで72時間培養した。コントロールは、薬剤を含まないMHA培地に塗抹し、各薬剤濃度の平板のコロニー数と薬剤のない平板のコロニー数との割合 (EOP, Efficacy of Plating, %) を求めた。薬剤濃度に対してEOPをプロットし、ポピュレーションプロファイルを求めた。

11. 自己溶菌活性と併用効果

Tryptic soy broth (TSB, Difco) で対数増殖初期まで培養 (37°C) し、sub-MICの薬剤を加え3.5時間培養した後、遠心 (3,500 \times g, 5 min) 後、その菌体を緩衝液 (0.1 MKCl-0.01 MMgCl₂-0.01 MTris, pH 7.0) で洗った。その洗浄菌体を0.1% Agarose含有の同一緩衝液に懸濁し、6セルポジショナーを装着した日立分光光度計U-3210で30°Cにおける585 nmの濁度減少率を測定した。次式により溶菌率をもとめた。

$$\text{溶菌率 (\%)} = 100 - (\text{Ast}/\text{As}0)/(\text{Act}/\text{Ac}0)$$

Ast: t時間後の検体の濁度

As0: 測定開始時の検体の濁度

Act: t時間後のコントロールの濁度

Ac0: 測定開始時のコントロールの濁度

コントロールは、薬剤を作用させていない菌体の懸濁液を用いた。

溶菌の有無の判定基準は、5時間後に10%以上の溶菌が見られたものを自己溶菌作用ありとした。なお、自己溶菌作用は、培地中のNaCl濃度で影響されるので、感受性およびFIC indexはNaClを含まないMHA培地を用いた。

II. 成績

1) 薬剤感受性

MRSA 42菌株中、DMPPCに対して100 μ g/ml以上の高度耐性を示す菌は35株 (83%) であった。

各薬剤の感受性をTable 1に示す。ほとんどの株

は、 β -ラクタム剤に高度耐性であった。また、すべての株はTOB耐性で、GM耐性 ($MIC \geq 1.56 \mu\text{g/ml}$) は31株 (73.8%) であった。31株 (73.8%) がキノロン耐性 (OFLX, $MIC \geq 3.13 \mu\text{g/ml}$) であった。MINO耐性 ($MIC \geq 3.13 \mu\text{g/ml}$) は17株 (40%) であったが、RFP耐性は2株のみであり、VCM耐性は認められなかった。

2) 併用効果

併用効果は、37°CでMHAによる寒天平板希釈法で測定した。その時のIPM単剤の MIC_{50} は、 $50 \mu\text{g/ml}$ で、併用時のIPMの MIC_{50} は $0.39 \mu\text{g/ml}$ に、CTM単剤の MIC_{50} は $400 \mu\text{g/ml}$ で、併用時のCTMの MIC_{50} は $25 \mu\text{g/ml}$ に低下した。最小FIC indexが0.5以下を示すのを相乗効果ありとすると、全株に相乗効果が認められた (Table 2)。また、Fig. 1はIPMとCTMの単剤および併用時の累積分布を示し

た。IPM/CS ($0.5 \text{g}/0.5 \text{g}$) を30分間点滴静注した時の3時間後の血中濃度¹⁹⁾は $3.7 \mu\text{g/ml}$ で、同様にCTM 2gを30分間点滴静注した時の3時間後の血中濃度は $10 \mu\text{g/ml}$ であるので、発育阻止される菌の割合は、IPM単剤では24%に対し、併用では90%まで発育阻止域が拡大した。一方、CTM単剤では4%、併用では59%になり、IPMおよびCTMの発育阻止域拡大が顕著であった。なお、データは示さないが、この併用効果は培地を変えても、また、培地中のNaCl濃度、培養温度を変えても大きな影響を受けなかった。

3) β -ラクタマーゼ産生 (Table 3)

42菌株中、 β -ラクタマーゼ産生株は、23株 (54.7%) であった。その中で、誘導型の産生株は14株 (33.3%)、構成型の産生株は9株 (21.4%) であった。IPMに対する MIC_{50} は、 β -ラクタマーゼ非産

Table 1. Antibacterial activity of various antibiotics against 42 strains of MRSA

Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	range	geometric mean	MIC_{50}	MIC_{90}
IPM	1.56 -> 200	25.5	50	100
CTM	12.5 -> 1,600	381	400	800
DMPPC	50 - 800	232	400	400
CMZ	12.5 - 50	32.6	50	50
CPZ	50 - 1,600	472	800	1,600
TOB	6.25 -> 200	-	>200	> 200
GM	0.39 - 400	14.0	50	100
OFLX	0.78 -> 200	21.2	50	> 200
VCM	0.39 - 1.56	0.89	0.78	1.56
RFP	0.006-> 200	0.01	0.006	0.012

IPM, imipenem; CTM, cefotiam; DMPPC, methicillin; CMZ, cefmetazole; CPZ, cefoperazone; TOB, tobramycin; GM, gentamicin; OFLX, ofloxacin; VCM, vancomycin; RFP, rifampicin.

-: not calculated

Table 2. Effect of combination of imipenem with cefotiam on the susceptibility of 42 strains of MRSA

Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	range	geometric mean	MIC_{50}	MIC_{90}
IPM alone	1.56 -> 200	25.0	50	50
CTM alone	12.5 - 1,600	400	400	800
IPM combined with CTM	0.012- 25	0.44	0.39	6.25
CTM combined with IPM	3.13 - 800	46.0	25	400

IPM, imipenem; CTM, cefotiam.

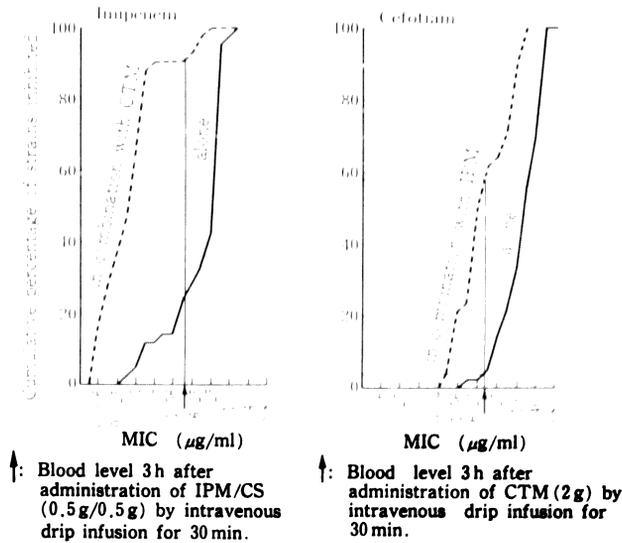


Fig. 1. Cumulative curve for susceptibility to imipenem (IPM) alone and in combination with cefotiam (CTM) (left) and CTM alone and in combination with IPM (right).

Table 3. Mode of production of β -lactamase and degree of resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to imipenem

Mode of production of β -lactamase (%)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	range	geometric mean	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Inducible (33.3)	1.56 - 50	9.76	12.5	50
Constitutive (21.4)	6.25 - 100	18.4	12.5	100
Non-producer (45.3)	25 - 200	60.0	50	100

MHA + 4% NaCl, 30°C

生株が 50 $\mu\text{g/ml}$, 構成型産生株と誘導型産生株がいずれも 12.5 $\mu\text{g/ml}$ で, β -ラクタマーゼ産生と耐性度には密接な関係が認められた²⁰⁾。

4) ファージ型別

ファージ型別では, 型別不能が全体の 62% を占め, 次いで混合型が 21% であった。

5) コアグララーゼ型別 (Table 4)

コアグララーゼ型別は II 型が 17 株, 次いで III 型が 16 株と, この二つの型が全体の 80% 近くを占めた。地域差, 病院による偏りは特に認められなかった。耐性度との関係を見ると II 型を示す 17 株の幾何平均 MIC は 50 $\mu\text{g/ml}$, III 型の 16 株の幾何平均 MIC は 16.2 $\mu\text{g/ml}$ でコアグララーゼ II 型の高度耐性化が顕著であった。

6) TSST-1 産生

42 株中 30 株 (71.2%) に TSST-1 毒素産生が認められた。それらの株のほとんどがコアグララーゼ II 型と III 型であった。やや施設によって偏りが見られた。コアグララーゼ VII 型を示す菌 6 株は, TSST-1 毒素を産生していなかった。

7) エンテロトキシン型別

エンテロトキシン型別では, A 型と C 型が多く見られた。A 型は 14 株 (33.3%) で, C 型は 25 株 (59.5%) で, B 型は 3 株のみ, D 型も 4 株にみられた。また, A 型のみを示す株は 3 株のみで, 他の株は, 他の型のエンテロトキシンを少量同時に産生していた。野々口によれば²¹⁾, エンテロトキシン C 型, TSST-1 産生, コアグララーゼ II 型を示すのは TOB^r+

Table 4. Coagulase type and degree of resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to imipenem

Coagulase type (%)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	range	geometric mean	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Type II (40.4)	1.56-200	50	50	100
Type III (38.1)	1.56- 50	16.2	25	50

MHA+4% NaCl, 30°C

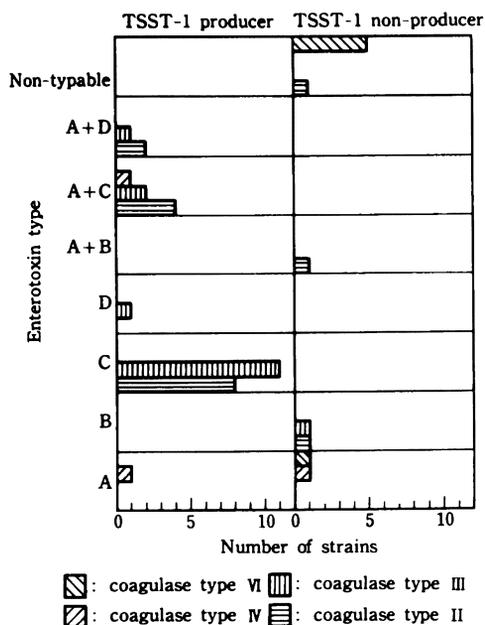


Fig. 2. Coagulase type, enterotoxin type and ability to produce TSST-1 of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

GM^r の MRSA に多いと報告しているが, 今回の分離菌もその3つの型を同時に示す菌が42株中8株(19%)であり, 次いで, エンテロトキシンC型, TSST-1産生, コアグララーゼIII型が11株(26%)と, この2つの型で約半数を占めていた (Fig. 2).

8) ポピュレーション分析

42株を, IPM に対する感受性に基いて, ポピュレーション分析し, そのプロファイルから, 典型的な Heterogeneity を示す株 (Hetero 型), 典型的な Homogeneity を示す株 (Homo 型), および, その中間的な性質を示す株 (Hetero' 型) の3群に分けることができた (Fig. 3). 典型的な Hetero 型を示す株は13株(31%), 中間的な株は10株(24%), Homo 型を示す株は19株(45%)であった。この, Heterogeneity には, β -ラクタマーゼが関与しているとの報告がある²⁰⁾. Hetero 型を示す株では13株中12株に β -ラクタマーゼ産生が認められたのに対し, Homo 型を示す株では, 19株中13株(68.4%)が β -ラクタマーゼ非産生株であった。耐性値との関係でみると, Hetero 型の IPM に対する幾何平均 MIC は 7.74 $\mu\text{g/ml}$, Hetero' 型は 30.8 $\mu\text{g/ml}$, Homo 型のそれは 51.9 $\mu\text{g/ml}$ であり, Homo 型になるほど耐性値

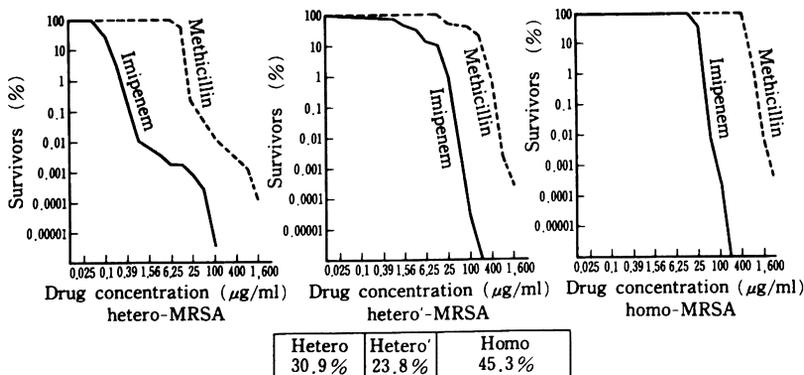


Fig. 3. Population analysis of the three typical strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and the ratio of isolation.

Table 5. Mode of expression of the resistance phenotype and degree of resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to imipenem

Expression mode (%)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	range	geometric mean	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Hetero (30.9)	1.56 - 25	7.74	12.5	25
Hetero' (23.8)	1.56 - 50	30.8	50	50
Homo (45.3)	6.25 - 200	51.9	50	100

MHA + 4% NaCl, 30°C

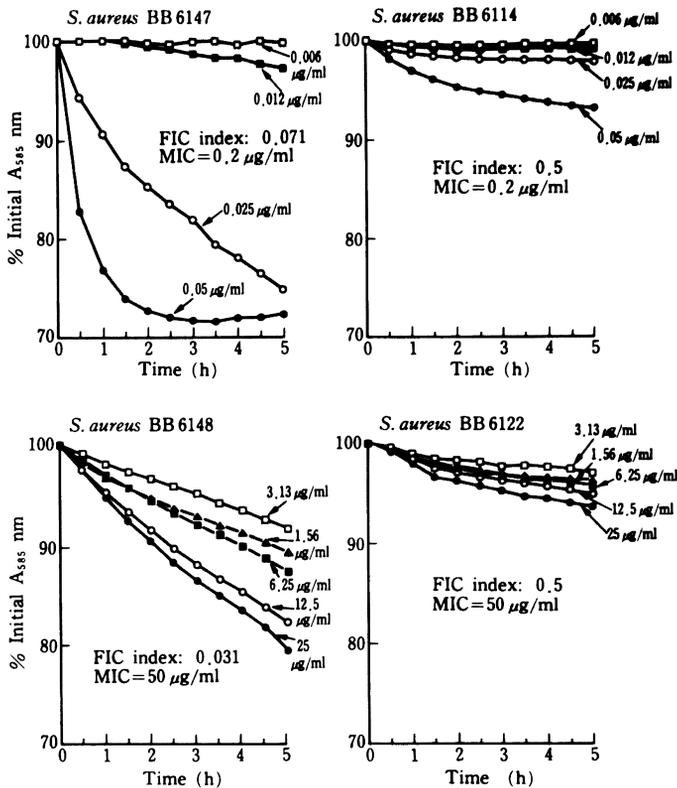


Fig. 4. Ability of imipenem to induce autolysis in four typical methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. Autolysis of washed cells was measured spectrophotometrically at 585 nm after 3.5 h exposure to imipenem at the concentrations indicated in the figure.

は高くなった (Table 5)。

9) 自己溶菌活性

併用作用の弱い群 (FIC index > 0.5) 11 株中, 溶菌が見られないものは 10 株 (91%) であるのに対して, 強い併用作用を示した群 (FIC index \leq 0.5) 31

株中, 溶菌が認められないものは 2 株 (6.4%) のみであった。Fig. 4 は IPM に対して同一の感受性を持ち, *in vitro* 併用効果の強い菌 (BB 6147, BB 6148) と弱い菌の組 (BB 6114, BB 6122) について自己溶菌活性を示したものである。これらの菌株はそれぞれ

異った施設から分離されたものである。高度耐性菌でも、併用効果のある菌は溶菌し (BB 6148, MIC=50 $\mu\text{g/ml}$), 感受性菌に近い MIC を持つ菌でも併用効果のない菌 (BB 6114, MIC=0.2 $\mu\text{g/ml}$) は溶菌しなかった。このことから、併用効果と自己溶菌率が深く関わりあっていることが示唆された。

III. 考 察

MRSA は、この 10 年間に急速に蔓延し、またその多剤・高度耐性化の速度も加速度的である。これは、ブドウ球菌に効力の弱い薬剤を常用したのがその一因と言われている²³⁾。昨今の MRSA は特に多剤・高度耐性であるため、単独で使用できる薬剤は非常に限られている。そのため、いったん MRSA による深部感染症を起こすと、初期に適切な治療を行わないと非常に危険な状態に陥る。宇津井らは、フォスフォマイシン (FOM) と β -ラクタム剤の併用、特に、FOM とセフメタゾール (CMZ) の併用をすすめ¹⁴⁾初期の MRSA には、十分な臨床効果が得られている。しかし、今日のように、FOM 高度耐性菌が蔓延している状態では、併用で効果があるかないかを検査室であらかじめ試験してからでないと思えない。今回使用した菌株でも、その 73% が 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を持っていた。横田らは FOM の耐性度が、200 $\mu\text{g/ml}$ 以下の場合には、FOM/CMZ の併用は有効であるが、FOM の MIC が 800 $\mu\text{g/ml}$ 以上のものは効果が期待できないとしている²⁵⁾。井上らは、IPM がグラム陽性菌、特に黄色ブドウ球菌に非常に強い抗菌力をもっていることと、黄色ブドウ球菌の PBP に対する結合親和性が他の β -ラクタム剤とは異なっていることに注目し、IPM/CS と β -ラクタム剤の併用療法を提唱し、実際に IPM/CS と CEZ の臨床成績が報告されている¹¹⁾。IPM/CS と CTM の併用療法を実施した (臨床結果の詳細は別報に記載) 39 施設 66 症例を対象に、併用療法開始直前に採取可能であった 42 株の MRSA について、その細菌学的な検討を行った。併用効果を表す指標として、FIC index がよく使われる。IPM/CTM の併用では全株 FIC index が 0.5 以下であり、他剤による併用に比べ、かなり強い併用効果であった。併用時の、菌の感受性値と併用投与時の人の血中濃度について調べたところ、IPM および CTM が常用量 (IPM/CS, 0.5g/0.5g; CTM, 2g) 投与された時の 3 時間後の血中濃度を基準にすると、IPM/CS と CTM の併用で治療可能領域になる菌株の割合は IPM について単独の 24% から CTM 併用で 90% に増えた。このことは、高度耐性の MRSA でもこの併用療法で十分臨床効果が期待できることを示唆

している。42 株中 30 株 (71.2%) が TSST-1 毒素を生産していた。また、TSST-1 産生、エンテロトキシン C 型、コアグラーゼ II 型または III 型が半分近く占めたこと、1 株を除いて、全株が TOB 耐性の菌であったことは、収集した菌が、現在の MRSA の主流を占める菌であることを示している。一方、エンテロトキシン型別不能の菌はコアグラーゼ VII 型に多く見られ、すべて TSST-1 非産生株であったのは興味深い傾向であった。黄色ブドウ球菌のほとんどは β -ラクタマーゼを産生することが知られているが、今回の菌株では、45.3% の株が β -ラクタマーゼ非産生株であり、産生株中の 40% は β -ラクタマーゼを構成的に産生するものであった。このことは、多くの報告に見られるように、コアグラーゼ II 型に β -ラクタマーゼ産生株が少ないことと同じ傾向を示した²⁶⁾。コアグラーゼ型別は、分離菌の 8 割が II 型と III で占められ、地域差があまり見られなかった。耐性値は II 型の方が III 型より高い傾向が見られた。耐性発現の様式として、そのポピュレーションプロファイルより、heterogeneous (Hetero 型) と homogeneous (Homo 型) に分類し、さらに Hetero 型を典型的な heterogeneous と homogeneous に近いもの (Hetero' 型) との分類した。

Hetero 型が 31%、Hetero' 型が 24%、Homo 型が 45% であった。Hetero 型の株 23 株のうち β -ラクタマーゼ産生株は、17 株 (73.9%) であるのに対し、Homo 型の株 19 株中 β -ラクタマーゼ産生株は 6 株 (31.5%) で β -ラクタマーゼの有無が耐性発現に大きくかかわっていることが示唆された。溶菌活性と併用効果については、渡辺らは²²⁾ cefpiramide (CPM) と cefotetan (CTT) との併用において、両薬剤を同時に作用させると自己溶菌が起こり易くなることを報告している。我々も CFX と CPM の併用することによってリゾチームに感受性になることを観察している²³⁾。併用によって自己溶菌酵素に感受性になることが一つの作用機構と考えられる。自己溶菌活性から併用効果を、またその逆も類推することが可能であるが、臨床の細菌学的効果と併用効果の強さにはいくつかの例外があった。たとえば、FIC index が 0.1 以下の非常に強い相乗効果を表す菌株は 22 株で、その中で細菌学効果が変わらなかったものは 7 株 (31.8%)、反対に、FIC index が 0.25 以上の弱い相乗効果を示す菌株は 6 株であり、その中で菌消失をみたものが 5 株 (83.3%) あり、生体側の因子が強く臨床効果にかかわりあっていることが示唆された。VCM 耐性菌は、我々の分離菌の中になかったが、この薬剤がグラ

ム陽性菌にのみ抗菌力があることを考え、混合感染には十分慎重に使用すべきである。一方、幅広い抗菌スペクトラムをもつ IPM/CS と CTM の併用療法は MRSA と他菌種、特に緑膿菌との混合感染にも十分効果が期待される化学療法であるといえる。

謝 辞

本研究を行うにあたり、菌株の収集と送付に御協力頂きました下記の諸施設の先生方に心より深謝致します。また、感受性測定をして頂いた今井かおると資料を整えて頂いた三井由美の両氏に感謝致します。

東京大学医科学研究所感染免疫内科、東京慈恵会医科大学第二内科および関連施設、東京大学医学部第二外科、東京大学医学部中央手術部、順天堂大学医学部内科・感染症、東京老人医療センター感染症科、東京都立府中病院外科、日本大学医学部第三外科、日本大学医学部第三外科教室、日本大学医学部附属健診センター細菌研究室、秋枝病院外科、板橋中央総合病院外科、要町病院外科、横浜いずみ台病院外科、帝京大学医学部第二外科、杏林大学医学部第一内科、新潟大学医学部第二内科、名古屋市立大学医学部第一外科および関連施設、名古屋市厚生院内科、名古屋市立大学医学部第一内科および関連施設、名古屋大学医学部第一内科および関連施設、大阪市立大学医学部第二外科、田辺中央病院、川崎医科大学呼吸器系内科、岡山大学医学部第一外科および関連施設、九州大学医学部第一内科、九州大学医療技術短期大学部および関連施設、大分医科大学第二内科および関連施設、長崎大学医学部第二内科および関連施設、琉球大学医学部第一内科および関連施設、北里大学医学部微生物学（順不同）。

文 献

- 1) Barber M: Methicillin-resistant *Staphylococci*. *J. Clin. Pathol.* 14: 385~393, 1961
- 2) 島田 馨, 安達桂子, 田中喜久子, 上条仁子, 佐々木宗男, 畠山 勤, 稲末孝思, 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
- 3) 後藤 元, 後藤美江子, 岡 慎一, 島田 馨, 清水喜八郎, 五島嵯智子, 上野一恵, 原 耕平: 本邦における多剤耐性黄色ブドウ球菌の現況, 1986 年から 1988 年にかけての分離状況と 18 抗菌剤に対する感受性。 *Chemotherapy* 37: 1334~1341, 1989
- 4) 松本慶蔵, 他: 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および他剤耐性菌の現況と治療への考察。 *Chemotherapy* 32: 517~526, 1984
- 5) Hartman B J, Tomasz A: Low-affinity penicillin-binding protein associated with β -lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Bact.* 158: 513~516, 1984
- 6) Utsui Y, Yokota T: Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin- and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents and Chemother* 28: 397~403, 1985
- 7) Berger-bächli B, Barberis-Maino L, Strassle A, Kayser F H: Fem A, a host-mediated factor essential for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: molecular cloning and characterization. *Mol Gen Genet* 219: 263~269, 1989
- 8) Berger-bächli B, Stassle A, Kayser F H: Characterization of isogenic set of methicillin-resistant and susceptible mutants of *Staphylococcus aureus*. *Eur. J. Clinical microb.* 5: 679~701, 1986
- 9) Hiramatsu K, Suzuki E, Takayama H, Katayama Y, Yokota T: Role of penicillinase plasmid in the stability of the mec A gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemother.* 34: 600~604, 1990
- 10) Murakami K, Tomasz A: Involvement of multiple genetic determinants in high-level methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Bact* 171: 874~879, 1989
- 11) 伊藤 章, 小田切繁樹, 松本文夫, 井上松久: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 感染症に対する cefazolin と imipenem 併用療法の基礎的・臨床的検討。 *Chemotherapy* 39: 174~184, 1991
- 12) Matsuda K, Asahi Y, Sanada M, Nakagawa S, Tanaka N, Inoue M: In-vitro activity of imipenem combined with β -lactam antibiotics for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 27: 809~815, 1991
- 13) Shimada K, Oka S, Goto M, Inoue M, Matsuda K, Sanada M: Synergistic effect of new combination (Imipenem and cefotiam) against MRSA demonstrated by in vitro pharmacokinetic system. *ICCAC 878*, 1990 (Atlanta)
- 14) Utsui Y, Ohya S, Magaribuchi T, Tajima M, Yokota T: Antibacterial activity of Cefmetazole alone and in combination with Fosfomycin against Methicillin- and Cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 30: 917~922, 1986
- 15) 日本化学療法学会 MIC 小委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。 *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 16) Hackbarth C J, Chambers H. F: Methicillin-resistant *Staphylococci*: Detection methods and treatment of infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 33: 995~999, 1989

- 17) 五島瑛智子, 辻 明良: β -ラクタム系抗生物質と β -ラクタマーゼ。検査と技術 9: 464~471, 1981
- 18) 井上松久, 大久保豊司: 黄色ブドウ球菌のファージ型別法。検査と技術 17: 1611~1615, 1989
- 19) 中川圭一, 小山 優, 早瀬 清, 今朝洞忠孝: Imipenem (MK-0787), Cilastatin sodium (MK-0791), MK-0787/MK-191 臨床第一相試験。Chemotherapy 33 (S-4): 357~378, 1985
- 20) Opal S M, Boyce J M, Medeiros A A, Mayer K H, Lyhte L W: Modification of homogeneous resistance in a methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* by acquisition of a β -lactamase encoding plasmid. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 23: 315~325, 1989
- 21) 野々口律子: 血液培養から分離されたメチシリン耐性ブドウ球菌について—菌の疫学的特徴と β -ラクタム系薬によるペニシリン結合蛋白-2'の誘導—。Chemotherapy 38: 90~101, 1990
- 22) 渡邊正人, 三橋 進, 井上松久: *Staphylococcus aureus* に対する cefpiramide と cefotetan の併用効果。Chemotherapy 37: 406~411, 1989
- 23) 松田耕二, 真田 実, 中川 晋, 井上松久: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対するセフォキシチンと β -ラクタム剤との併用効果。第 38 回日本化学療法学会総会 (長崎) 演題番号 143
- 24) 穴戸春美, 松本慶蔵, 高橋 淳, 渡辺貴和雄, 植木信介, 田村厚久, 永井英明, 米田良蔵: 多剤耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 感染症の現状。化学療法の領域 4: 2293~2302, 1988
- 25) 横田 健: 新しい MRSA の基礎的展開。化学療法の領域 6: 1149~1156, 1990
- 26) 出口浩一, 小田清次, 中根 豊, 橋本 一: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* における薬剤感受性パターンと β -ラクタマーゼ活性の相関。第 64 回日本細菌学会 (大阪) D-II-12

BACTERIOLOGICAL STUDY ON METHICILLIN-RESISTANT
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED FROM PATIENTS
BEFORE COMBINATION THERAPY WITH
IMIPENEM/CILASTATIN SODIUM
AND CEFOTIAM

Kouji Matsuda, Bungo Harada, Kaneyoshi Shibata

Minoru Sanada and Susumu Nakagawa

Tsukuba Research Institute, Banyu Pharmaceutical Co., Ltd. Ibaragi, Japan

Matsuhisa Inoue

Microbiology, School of Medicine, Kitazato University

Kaoru Shimada

Institute of Medical Science, Tokyo University

We investigated the bacteriological characteristics of 42 strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from patients with MRSA-infections between July 1989 and October 1990. Although almost all of the strains were characterized by multiple resistance and high-resistance to β -lactam antibiotics, aminoglycosides and new quinolones, all were susceptible to vancomycin. The combination of imipenem (IPM) plus cefotiam (CTM) *in vitro* displayed synergistic activity against all of the strains with a minimal fractional inhibitory concentration index of less than 0.5. The cumulative curves for susceptibility to IPM alone and to the combination of IPM plus CTM showed blood levels of imipenem/cilastatin sodium (IPM/CS, 0.5 g/0.5 g) 3 h after 30 min intravenous drip infusion effective against 24% of the isolates when IPM/CS was used alone and 90% of the isolates when IPM/CS was used in combination with CTM (2 g). In the same way, CTM alone and CTM in combination with IPM/CS were effective against 4% and 59% of isolates, respectively. Coagulase type II and III strains together accounted for 80% of the isolates, and toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) and enterotoxin C were produced by 71.2% and 59.5%, respectively of the MRSA. Approximately 50% of the isolates did not produce β -lactamase. Bacteriophage typing of the isolates yielded mainly strains of non-typable (62%) and mixed types (21.4%). Population analysis of the isolates yielded typical heterogeneous and homogeneous expression phenotypes in 31% and 45%, respectively. The above findings indicated that many had the typical bacteriologic characteristics of the MRSA currently common throughout Japan, i.e., they revealed them to be of the coagulase II or III type, the homo-type, enterotoxin C producers, TSST-1 producers and β -lactamase non-producers. Although these types of MRSA strains are generally resistant to chemotherapy, IPM/CS plus CTM combination therapy had an overall clinical efficacy of 76%, indicating that this combination therapy is useful against infections caused by multiple-resistant and high-resistant *Staphylococcus aureus*. Since the strains in which these agents acted synergistically tended to autolyze, the autolytic activity of MRSA may play an important role in the mechanism of this synergism.