

多剤耐性 *Staphylococcus epidermidis* の出現と抗菌剤併用効果

武本 雅治・福地 邦彦

昭和大学医学部臨床病理学教室*

(平成5年5月28日受付・平成5年7月9日受理)

昭和大学病院臨床検査部に1991年4月から1992年3月の1年間に提出された検体から検出された *Staphylococcus epidermidis* 1,198株のうち、多剤耐性 *S. epidermidis* は218株(18.2%)であった。多剤耐性 *S. epidermidis* は呼吸器および尿由来の検体から特に高率に検出され、それぞれ22.0%、22.3%であった。多剤耐性 *S. epidermidis* に感性の残った抗菌剤は minocycline, ofloxacin, cefotiam (CTM) であり、抗菌剤の併用では、imipenem (IPM) + amikacin (AMK), IPM + flomoxef, および CTM + AMK が有効性を示した。また、併用効果と β -ラクタマーゼ産生能とに関連性は認められなかった。

Key words: *S. epidermidis*, MIC, FIC index

近年、病原性あるいは毒性が弱いとされる常在菌、環境菌による重症感染症の発症が増加し、さらにそれらの多剤耐性化が問題となっている。感染症の原因菌としては、*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) が多くを占めているが、従来検体採取時における汚染菌として扱われていた Coagulase Negative *Staphylococcus* (CNS), なかでも *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) が起因菌となるケースが増加している¹⁾。今回臨床検査材料から検出された *S. epidermidis* の抗菌剤感受性検査を行い、多剤耐性菌の出現を確認し、さらに *S. epidermidis* に対する抗菌剤の併用効果を検討したので報告する。

I. 材料と方法

1. 対象

1991年4月～92年3月の1年間に、昭和大学病院臨床検査部細菌室に提出された各種臨床材料42,430検体より分離された *S. epidermidis* 1,198株を検討対象とした。

2. 感染症テスト

抗菌剤感染症テストは、Autoscan 4 (Baxter Healthcare co., USA) および MIC 2000 (Dynatech laboratories, INC. USA) を用いた微量液体希釈法で行い、Table 1 に示す8系統13剤についてMICを測定した。Break point は NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) の基準を使用し (Table 1)²⁾、抗菌剤の併用効果は Checker board titration 法で FIC index を算出して判定した。

3. 多剤耐性菌の定義

検討抗菌剤13剤中9剤以上に耐性を示した *S. epidermidis* を多剤耐性菌と定義した。これは、3系統以上の抗菌剤に耐性であることを前提条件とし、8剤耐性株と9剤耐性株ではセフェム系薬剤に対する感受性が著しく異なることから、9剤以上耐性株を多剤耐性株とした。

II. 結果

1. 多剤耐性 *S. epidermidis* の出現状況

検討期間中の *S. epidermidis* 検出の月別推移と多剤耐性株の比率を Table 2 に示した。起炎菌と考えられた *S. epidermidis* のうち、多剤耐性菌は毎月の *S. epidermidis* 検出患者の約10～30 (平均18.2%) に検出された。さらに多剤耐性株の占める比率を検出部位別にみると、呼吸器からの22.0%、膿などからの18.0%、尿からの22.3%、血液由来の15.4%と多剤耐性菌の比率が高かったが、尿道分泌物や陰分泌物由来のものでは2.7%と低率であった。

2. 多剤耐性 *S. epidermidis* の単剤に対する感受性

今回検索を行った期間中に検出された多剤耐性 *S. epidermidis* の各抗菌剤に対する感受性の特徴を Fig. 1 にまとめた。多剤耐性 *S. epidermidis* に比較的感性の残った抗菌剤は minocycline (MINO), erythromycin, clindamycin, ofloxacin (OFLX) と第2世代セフェム剤の cefotiam (CTM) であり、その他の β -ラクタム剤である benzylpenicillin, ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), oxacillin (MPIPC),

* 東京都品川区旗の台1-5-8

Table 1. Antibiotics used in susceptibility testing of *Staphylococcus epidermidis*

	break point ($\mu\text{g/ml}$) [*]		
	susceptible	Moderately susceptible	Resistant
Ampicillin (ABPC)	<0.25	0.25-2	>2
Benzylpenicillin (PCG)	≤ 0.12		>0.12
Piperacillin (PIPC)	<32	32-64	>64
Oxacillin (MPIPC)	<4		≥ 4
Cefazolin (CEZ)	<16	16	>16
Cefmetazole (CMZ)	<16	16	>16
Cefotiam (CTM)	<16	16	>16
Fosfomycin (FOM)	<16	16	>16
Gentamicin (GM)	<8	8	>8
Erythromycin (EM)	<1	1-4	>4
Clindamycin (CLDM)	<1	1-2	>2
Ofloxacin (OFLX)	<4	4	>4
Minocycline (MINO)	<8	8	>8

* refer to NCCLS document M7-A2 vol. 10²⁾

cefazolin, cefmetazole にはほとんどの株が耐性を示し、また fosfomycin, gentamicin に対しても多くの株が耐性を獲得していた。

3. *S. epidermidis* に対する抗菌剤併用効果

抗菌剤を単独に大量に使用すると容易に菌が耐性化したり、また、副作用による投与量の限界があることから、*S. epidermidis* に対する抗菌剤併用効果について検討を行った。まず併用効果の可能性を検索するため、ルーチン13剤以外の Table 4 に示す薬剤の感受性テストを行い、この中で比較的有効であった抗菌剤の1濃度ディスクを並列配置した阻止円形成試験を行い、併用効果を確認した。検討には、様々の感受性パターンを示す *S. epidermidis* 30株をランダムに選択して使用した。その結果、Table 5 に示す8通りの組み合わせは高い併用効果が認められ、Checker board titration 法で FIC index を算出した。

この中で、特に併用の有効性を認めたものは imipenem (IPM)+amikacin (AMK)、IPM+floximef (FMOX)、および CTM+AMK であった。特に、IPM あるいは AMK の単剤使用時には耐性を示した菌株が、これら2剤を併用することにより相加作用を認めるものがあった。また、IPM+AMK の併用時では相加作用の菌株が、IPM+FMOX の併用時で拮抗作用を示し、CTM+AMK では相乗作用の菌株が、CTM+IPM では拮抗効果を示したのも確認された。

なお併用薬剤の中には β -ラクタマーゼによって作用が阻害されるものもあるため、各々の株の β -ラクタマーゼ産生能と併用効果との関連を検索した。 β -ラクタマーゼ産生株の数を Table 5 中の括弧内に示したが、関連性は χ^2 二乗検定の結果認められなかった。また、個々の抗菌剤の MIC 値と併用効果にも、関連性は認められなかった。

III. 考 察

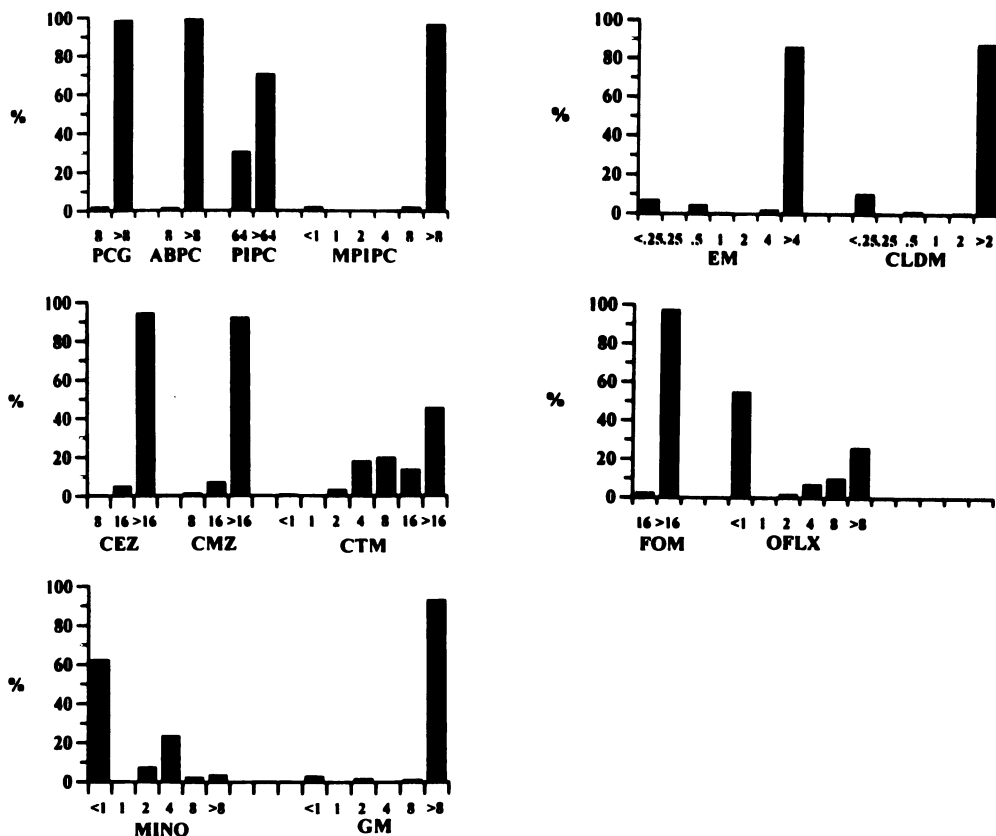
多剤耐性 *S. epidermidis* は、検出された *S. epidermidis* のうち10~30%で認められ、検体の由来により、その多剤耐性化率が若干異なった。尿由来の *S. epidermidis* に多剤耐性株が多かった理由としては、感染症に対して投与された各種抗菌剤のほとんどが尿中に排泄され、尿路環境では抗菌剤が高濃度状態になっていることが挙げられる。また、同様に呼吸器由来においても、多くの抗菌剤は良好な呼吸器移行を示すため抗菌剤が高濃度状態であり、多剤耐性化が起りやすいと考えられる。そして、尿道および膣分泌物由来の *S. epidermidis* に多剤耐性株が少なかったのは、これらの多くが外来患者であったり、比較的抗菌剤の投与を受けていないことと関連しているのかも知れない。

多剤耐性 *S. epidermidis* に対して単剤で感性が残った抗菌剤は MINO と OFLX であった。この2剤は、MRSA においても感性が報告されている^{3,4)}。また、PCG, ABPC, PIPC および MPIPC に対してはほと

Table 2. Isolation of multi-drug-resistant *Staphylococcus epidermidis*

No. of patients	Respiratory specimens		Pus, Ascites Drainage		Urine		Urethra		Blood		Total		S. <i>epidermidis</i> total	% of multi-drug-resistant S. <i>epidermidis</i>	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S			
	91.4	106	13	32	7	25	3	4	0	15	1	0			24
5	98	5	32	8	30	1	11	0	10	0	2	14	85	99	14.1
6	129	5	55	8	28	2	8	1	20	1	2	17	113	130	13.1
7	113	17	38	9	22	2	10	0	12	0	3	28	85	113	24.8
8	106	9	38	3	28	2	6	0	11	0	1	14	84	98	14.3
9	89	16	24	10	25	3	5	0	9	0	1	29	64	93	31.2
10	116	11	36	5	36	6	4	0	12	2	3	24	91	115	20.9
11	102	10	34	3	19	1	9	1	10	0	3	15	75	90	16.7
12	87	6	30	0	23	2	8	0	14	0	0	8	75	83	9.6
92.1	73	5	29	4	18	1	12	0	10	0	1	10	70	80	12.5
2	82	11	30	3	23	1	8	2	5	0	2	17	68	85	20.0
3	109	10	40	5	25	3	9	0	16	0	4	18	94	112	16.1
Total		118	418	65	302	27	94	4	144	4	22	218	980	1,198	18.2
S. <i>epidermidis</i> total		536		367		121		148		26		1,198			
% of multi-drug-resistant S. <i>epidermidis</i>		22.0		17.7		22.3		2.7		15.4		18.2			

R: multi-drug-resistant S: susceptible



PCG: benzylpenicillin, ABPC: ampicillin, PIPC: piperacillin, MIPIC: oxacillin, CEZ: cefazolin, CMZ: cefmetazole, CTM: cefotiam, MINO: minocycline, GM: gentamicin, EM: erythromycin, CLDM: clindamycin, FOM: fosfomycin, OFLX: ofloxacin.

Fig. 1. MIC distribution of multidrug resistant *Staphylococcus epidermidis* of 13 antibiotics.

Vertical axis: Incidence of *Staphylococcus epidermidis* was indicated as percentage. Horizontal axis: MIC value ($\mu\text{g/ml}$) was indicated. Total of 218 strains of multidrug resistant *Staphylococcus epidermidis* were surveyed.

んどの多剤耐性 *S. epidermidis* が耐性を示したが、同じ β -ラクタム剤である CTM には感性株が多く、このことは *S. epidermidis* の多剤耐性化が多段階で起こっており、現時点では MRSA に見られるような多剤耐性化が高度でないことを示唆している。さらに、 β -ラクタマーゼ産生の有無と多剤耐性化との間には関連性が認められず、これは MRSA の場合と同様である⁹⁾。これらのことから、*S. epidermidis* の多剤耐性獲得機構の 1 つとして MRSA のそれと類似の機構が考えられる。すなわち、*S. aureus* では、PBP 2' の存在が多剤耐性の基本となり、さらに耐性調節因子の変異により高度耐性化に導かれる⁹⁾。我々は、種々の程度の抗菌剤感受性パターンを持つ CNS から MRSA

と同様の *mecA* 遺伝子を検出しており⁷⁾、今後、*mecA* 陽性株がさらに多剤に対して耐性を獲得する機構を解明したい。

これら多剤耐性 *S. epidermidis* が起炎菌となった場合には治療が困難となり、抗菌剤の使用方法が重要となってくる。今回は *in vitro* での検討であるが、併用の有効性を特に認めたのは、IPM+AMK、IPM+FMOX、および CTM+AMK であった。MRSA に対しても多くの抗菌剤併用が検討され、 β -ラクタム剤とアミノグリコシド剤、 β -ラクタム剤と FOM、またある種の β -ラクタム剤同志の併用の有効性が報告されている^{8,9)}。

今回の検討でも同様な併用効果を示しており、

Table 3. List of antibiotics retaining efficacy against multi-drug-resistant *Staphylococcus epidermidis*

No. of resistant antibiotics	Antibiotics	No. of strains
13		3
12	MINO	11
11	MINO, OFLX	49
	MINO, CTM	28
	MINO, GM	2
	others	6
10	MINO, CTM, OFLX	33
	MINO, GM, OFLX	8
	MINO, CMZ, CTM	5
	others	11
9	MINO, CTM, EM, CLDM	18
	MINO, EM, CLDM, OFLX	6
	MINO, CMZ, CTM, OFLX	4
	others	34
	Total	218

MINO: minocycline, OFLX: ofloxacin, CTM: cefotiam, GM: gentamicin, CMZ: cefmetazole, EM: erythromycin, CLDM: clindamycin.

Table 4. List of additional antibiotics tested for combination assay

Cefamandole (CMD)
Cefotaxim (CTX)
Ceftizoxime (CZX)
Ceftazidime (CAZ)
Cefuzonam (CZON)
Cefixime (CFIX)
Sulbactam · cefoperazone (S/C)
Latomoxef (LMOX)
Flomoxef (FMOX)
Aztreonam (AZT)
Carumonam (CRMN)
Imipenem (IPM)
Enoxacin (ENX)
Norfloxacin (NFLX)
Ciprofloxacin (CPFV)
Amikacin (AMK)

MRSA との抗菌剤作用機序の共通性を示唆している。さらに、 β -ラクタマーゼ産生株であっても良好な併用効果が得られたこと、また、IPM+AMK の併用時には相加作用を示したが、IPM+FMOX では拮抗作用を示した株の存在、同様に、CTM+AMK で相乗作用を示したが、CTM+IPM では拮抗した株の存在などは抗菌剤併用時における β -ラクタム剤の作用機序を考えるうえに興味深い。抗菌剤併用による効果発現の機序は不明であるが、菌株による併用効果の差は耐性機構に相違があることを示し、安易な併用治療の危険性を示唆している。これらのことから今後、治療前の *in vitro* での併用効果の検索が望ましいと考えられる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を頂いた五味邦英教授、高木康助教授に感謝いたします。また、研究にご協力頂いた昭和大学病院臨床検査部細菌室の皆様にも感謝いたします。

文 献

- 1) 福地邦彦, 高木 康, 五味邦英, 山口智子, 和久田梨

Table 5. Summary of combined effects

	≤0.5	0.5<FIC≤1	1<FIC≤2	2<	not determined*
IPM/MINO	3 (2)	1 (0)	21 (10)	0	5 (4)
IPM/OFLX	7 (4)	0	19 (9)	0	4 (3)
IPM/AMK	10 (3)	6 (4)	9 (5)	0	5 (4)
IPM/FMOX	11 (6)	5 (1)	11 (6)	3 (3)	0
IPM/CTM	7 (4)	5 (2)	14 (7)	4 (3)	0
MINO/OFLX	1 (1)	0	11 (2)	0	18 (13)
CMD/OFLX	4 (2)	4 (1)	22 (13)	0	0
CTM/AMK	10 (4)	10 (5)	10 (7)	0	0

IPM: imipenem, MINO: minocycline, OFLX: ofloxacin, AMK: amikacin, FMOX: flomoxef, CTM: cefotiam, CMD: cefamandole.

Range of antibiotics concentration used for checker board titration was 0.5 to 32 μg/ml.

() : No. of β-lactamase positive strains.

* MICs of MINO, OFLX or IPM were below 0.5 μg/ml. FIC index was not determined.

- 香, 田中庸子: 昭和大学病院における検出細菌の動向および薬剤感受性. 1990年7月から1991年6月までの統計. 昭和医学会誌 52: 93~103, 1992
- 2) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. second edition: NCCLS document M7-A 2 vol.10 (8) 1990
 - 3) 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ぶどう球菌の13薬剤に対する感受性. Chemotherapy 36: 289~293, 1998
 - 4) 小栗豊子, 佐藤米子: 臨床材料からのメチシリン耐性黄色ぶどう球菌 (MRSA) の検出状況と薬剤感受性. 臨床と微生物 15: 139~145, 1988
 - 5) 横田 健: MRSAの耐性機構と対策. 日本臨床 46: 特別号 189~200, 1988
 - 6) 和田昭仁: MRSAにおける *ferA* 遺伝子の役割. Modern Physician 11: 1415~1419, 1991
 - 7) 福地邦彦, 茂木孝晴, 武本雅治, 山本 滋, 和久田梨香, 高木 康, 五味邦英: CNSの多剤耐性化における *mecA* の関与. 医学のあゆみ 164: 581~582, 1993
 - 8) 石代欣一郎, 福地邦彦, 高木 康, 五味邦英, 小池正: MRSAの疫学と院内感染および抗菌剤の併用効果. 日環誌 6: 27~34, 1991
 - 9) 菅野治重: MRSAに対する抗菌剤の併用効果. 臨床と微生物 15: 168~173, 1988

Incidence of multi-drug-resistant *Staphylococcus epidermidis* and effect of antibiotic combinations *in vitro*

Masaharu Takemoto and Kunihiro Fukuchi

Department of Clinical Pathology, Showa University, School of Medicine,
1-5-8 Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo 142, Japan

The incidence of multi-drug-resistant *Staphylococcus epidermidis* in Showa University Hospital was surveyed from April 1991 to March 1992. Multi-drug-resistant *S. epidermidis* comprised 18.2% (218/1,198 strains) of all *S. epidermidis* isolated. Multi-drug-resistant *S. epidermidis* were frequently isolated from respiratory system and urine in specimens 22.0% and 22.3%, respectively. Minocycline, ofloxacin and cefotiam retained their efficacy against multi-drug-resistant *S. epidermidis*. The combinations imipenem plus amikacin, imipenem plus flomoxef, and cefotiam plus amikacin were shown to be effective by the *in vitro* checkerboard titration method. The effect of the combinations was unrelated to β-lactamase production.