

グラム陽性球菌に対する Teicoplanin の抗菌力とその基礎的検討

井上 松久・長曾部紀子・野々山勝人
北里大学医学部微生物学教室*

Teicoplanin (TEIC) はグラム陽性菌に対して強い抗菌力を示した。また本剤は臨床分離のメチシリン感受性及び耐性 *Staphylococcus aureus* や *Enterococcus faecalis* に対しても良好な抗菌力を示したが、coagulase 陰性ブドウ球菌の一部において本剤に対して MIC 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示す菌株もみられた。しかし、本剤は他剤に対する耐性とは交差耐性が認められなかった。TEIC の抗菌力を液体培地を用いて調べると、菌数による MIC の変動は寒天培地に比べ少なかった。また菌の増殖曲線に対する本剤の影響は、菌の世代時間の長い *S. aureus* に対して、より低濃度でその増殖を抑制した。グラム陽性球菌に対する本剤と β -ラクタム剤との間に併用効果が認められ、Fractional inhibitory concentration (FIC) で 2 以上の菌株は存在しなかった。さらに、本剤はリゾチーム感受性変異の *S. aureus* に対して野性株より強い抗菌力を示し、リゾチームとの併用により併用効果が推定された。

Key words : Teicoplanin, MRSA, 世代時間, リゾチーム感受性菌

Teicoplanin (TEIC) は *Actinoplanes teichomyceticus* の発酵生産物であり、その特徴は D-mannose と N-acetyl-D-glucosamine がそれぞれ glycopeptide のアミノ基に結合した構造を有する、いわゆるグリコペプチド類似化合物である¹⁾。従って、化学構造の面から分類すると本剤は vancomycin (VCM) と類似の化合物である。本報では *Staphylococcus aureus* をはじめとしたグラム陽性菌を中心とした臨床分離細菌に対する TEIC の抗菌力を対照薬のそれと比較検討した。

1. 実験材料および実験方法

1. 使用菌株

グラム陽性菌を中心とした標準菌株 (群馬大学医学部附属薬剤耐性菌実験施設から分与された) 並びに 1992 年分離の coagulase 陰性 *Staphylococcus* 属、1991 から 1992 年にかけて分離された *Enterococcus faecalis* を使用した。また 2 薬剤の併用効果の検討、菌の増殖に対する薬剤の作用実験では *S. aureus* MS353 株及び MS353 株由来のリゾチーム感受性変異菌である MS15009 株、MS15009M21 株を用いた²⁾。

2. 使用薬剤

TEIC はマリオン・メレル・ダウ (lot no. 069/0 ; 力価 826 $\mu\text{g/mg}$)、対照薬として用いた VCM は塩野義製薬 (lot no. 1014 ; 力価 1124 $\mu\text{g/mg}$) 及び arbekacin (ABK) は明治製薬 (lot no. RDK401 ; 力価 681 $\mu\text{g/mg}$) からそれぞれ分与された薬剤を用いた。

また、methicillin (DMPPC, lot no. AB1136 ; 力価 850 $\mu\text{g/mg}$)、oxacillin (lot no. AB1166 ; 力価 850 $\mu\text{g/mg}$) はいずれも萬有製薬から分与された。

3. 感受性試験

菌株の培養には感受性測定用プロス (STB, 日本製薬) を、測定培地には感受性測定用寒天培地 (STA, 日本製薬) をそれぞれ使用した。また感受性試験は日本化学療法学会標準法に従い、寒天平板希釈法により行った³⁾。即ち、一夜培養菌を STB にて約 3×10^8 CFU/ml に予め調整した後、それぞれの菌液を buffered saline gelatine (BSG) にて 100 倍希釈した。この希釈液を用いてマイクロプランター (佐久間製作所) にて上記 STA に植菌した。各菌株に対する最小発育阻止濃度 (MIC) も前記方法に従った³⁾。

4. 増殖菌に対する薬剤の影響

新たに増殖させた対数増殖期の菌を 10 ml の STB を用いて約 5×10^6 CFU/ml に希釈した。その後、直ちにこの菌液に各濃度の薬剤を加え、その 5 ml を L 字管に分取した後、60~62 回/分の割合で振盪培養した。この間、各時間毎に菌の増殖を OD (560 nm) で測定し、薬剤無添加の対照と各薬剤存在下の増殖との比を求めた。同時に、必要に応じその時の生菌数を BSG にて希釈後 STA に塗抹し測定した。また、この実験において薬剤を含まない菌の増殖曲線を用いて、各菌の 1 世代当たりの時間を求めた。即ち、一定時間に増え

たそれぞれの生菌数の違いから、理論上菌が2倍増える時間を算出し、その値をもってそれぞれの菌が分裂に要する一世代当たりの時間とした。その結果 *S. aureus* の MS353 株の一世代時間は約 30 分、MS15009 株、MS15009M21 株のそれは共に約 66 分であった。

5. 併用効果の検討

単剤または2薬剤存在下で2倍希釈薬剤含有培地を STA で作り、そこに MIC を求めた時の菌数 (10^8 CFU/ml) をマイクロプランターで植菌し、35°C、一夜培養後、MIC をもって示した。2薬剤による相乗作用の判定は既報に従って判定した^{4,5)}。

リゾチームと TEIC との作用は、先に報告した濾紙を利用したペーパー・ストリップ法にて検討した⁴⁾。各濾紙 (東洋; lot no. 526) には MIC の約 10 倍程度の薬剤 0.1 ml を浸透させる。次いで STA 上に約 10^8 CFU/ml に希釈した菌液を塗布した平板上に、リゾチームないしは TEIC を浸透させた濾紙をそれぞれ互いに垂直になるように置いて培養し、薬剤による菌の阻止帯から薬剤の効果を判定した。

II. 実験結果

1. 標準菌株に対する抗菌力

グラム陽性菌を中心とする標準菌株に対する TEIC 及び VCM, ABK の抗菌力を Table 1 に示した。TEIC はグラム陽性菌に対してのみ $0.10\sim 0.20\ \mu\text{g/ml}$ の MIC を示した。また、VCM の抗菌力はグラム陽性菌に対して $0.39\sim 0.78\ \mu\text{g/ml}$ であり、TEIC 同様 *Escherichia coli* をはじめとし、検討したグラム陰性菌に対する抗菌力は弱かった。これに対して、ABK は *Streptococcus pyogenes* を除くグラム陽性菌、グラム陰性菌いずれの菌種に対しても強い抗菌力を示し、その MIC 範囲は $0.20\sim 0.78\ \mu\text{g/ml}$ であった。他方、データには示さなかったが 10^8 CFU/ml の菌数を用いて MIC を求めた場合、ABK を除く TEIC と VCM の 2 薬剤の MIC は 10^6 CFU/ml を用いた時の MIC に比

べ共に約 10 倍程度上昇した。

2. 臨床分離グラム陽性菌に対する抗菌力

臨床分離 methicillin 感受性及び耐性 *S. aureus* 及びその他のグラム陽性菌に対する TEIC の MIC の結果を Table 2 に示した。Methicillin 感受性 *S. aureus* (MSSA), methicillin 耐性 *S. aureus* (MRSA) いずれに対しても TEIC の MIC ピークは $0.39\ \mu\text{g/ml}$ であったが、MRSA において $6.25\ \mu\text{g/ml}$ を示す菌株が検査株 50 株中 3 株検出された。VCM の MIC ピークは MSSA, MRSA 共に $0.78\ \mu\text{g/ml}$ であったが、ピークからのずれは MSSA に比べ MRSA の方がより耐性側にシフトしており、MRSA の中で最も高い MIC を示した菌株は $3.13\ \mu\text{g/ml}$ であった。

ABK の MIC ピークは MSSA では $0.20\ \mu\text{g/ml}$ 以下、MRSA では $0.78\ \mu\text{g/ml}$ であり、MRSA の方が MIC がやや高い傾向が認められた。また、MSSA, MRSA の中に $6.25\sim 12.5\ \mu\text{g/ml}$ の MIC を示す菌株がそれぞれ 1 株ずつ検出された。以上の結果を総合すると、MSSA に対する抗菌力は ABK > TEIC > VCM, MRSA に対する抗菌力は TEIC > ABK > VCM の順に強かった。

Staphylococcus epidermidis に対して TEIC は、そのほとんどが $\text{MIC} < 0.20\sim 3.13\ \mu\text{g/ml}$ の範囲で抗菌力を示したが、しかし中には 1 株 $12.5\ \mu\text{g/ml}$ を示す菌株が存在した。これに対して VCM の MIC 範囲は $0.78\sim 1.56\ \mu\text{g/ml}$, ABK の MIC 範囲は $0.20\sim 1.56\ \mu\text{g/ml}$ であった。Coagulase 陰性ブドウ球菌 (CNS) 23 株に対する TEIC の MIC 範囲は広く $< 0.20\sim > 25\ \mu\text{g/ml}$ であった。特に MIC $12.5\ \mu\text{g/ml}$ 以上を示した菌種は *Staphylococcus intermedius* 1 株, *Staphylococcus capitis* 1 株, *Staphylococcus haemolyticus* 4 株であった。

E. faecalis に対する TEIC の抗菌力は上記菌種に比べて著しく強く、検査した 52 株全株の MIC は 0.20

Table 1. Antibacterial activity of teicoplanin against gram-positive and negative bacteria

Strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	Teicoplanin	Vancomycin	Arbekacin
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P	0.20	0.78	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> MS353	0.20	0.78	0.20
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.10	0.39	25
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC9341	0.10	0.78	0.39
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	0.10	0.78	0.20
<i>Escherichia coli</i> ML4901	100	100	0.20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01	100	100	0.78

$\mu\text{g/ml}$ 以下であった。これに対して VCM の MIC 範囲は 0.78~3.13 $\mu\text{g/ml}$ であった。

以上, MSSA, MRSA に対する MIC 分布の結果から TEIC, VCM 及び ABK 各薬剤の耐性限界値をいずれも 3.13 $\mu\text{g/ml}$, すなわち 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 含有平板に増殖した菌株を耐性菌とした。各施設由来の MRSA 455 株における耐性菌の分離状況を調べ, その結果を Table 3 に示した。各 3.13 $\mu\text{g/ml}$ の薬剤含有 STA に増殖した TEIC, VCM, ABK 各薬剤耐性菌はそれぞれ 14 株 (3.1%), 0 株, 17 株 (3.7%) 分離されたが, これらの各薬剤耐性菌にはいずれも交差耐性が認められなかった。この実験で分離された耐性菌の MIC は, TEIC の場合 6.25 $\mu\text{g/ml}$ を示した菌株 13 株, 12.5 $\mu\text{g/ml}$ を示した菌株 1 株, ABK の場合 6.25 $\mu\text{g/ml}$ を示した菌株 10 株, 12.5 $\mu\text{g/ml}$ を示した菌株 6 株, 25 $\mu\text{g/ml}$ を示した菌株 1 株であった。

3. TEIC と他剤との併用

最近臨床検体から分離される MSSA, MRSA はそ

の過程で同時に真菌, *Pseudomonas aeruginosa* あるいは *E. faecalis* を伴うことが多いことが判ってきた。TEIC, VCM は共にグラム陰性菌に対して強い抗菌力を示さないことから, これらの薬剤と併用作用を示す薬剤について検討した。併用薬剤は *P. aeruginosa* に対して抗菌力を示す imipenem (IPM), cefoperazone (CPZ), piperacillin (PIPC) の 3 薬剤である。Table 4 に示した様に, MRSA K 92-7, MSSA no. 2 においては, TEIC, VCM 共に IPM, CPZ, PIPC との併用によりその MIC は 2 倍強くなった程度である。他方, IPM, CPZ は単剤の MIC に比べ MRSA では約 100~1000 倍, PIPC は約 4~8 倍, MSSA においてはいずれの β -ラクタム剤も 2~100 倍 TEIC, VCM との併用により強い値を示した。同様に, *S. epidermidis* G 9, *S. haemolyticus* G 82, *S. capitis* no. 33 においても TEIC, VCM の MIC は IPM, CPZ, PIPC との併用により約 2 倍, 逆に IPM, CPZ, PIPC の MIC は TEIC, VCM との併用により約 4~100 倍それぞれ

Table 2. Antibacterial activity of teicoplanin against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*

Organisms	Drugs	No. of strains tested	Susceptibility distribution of MIC ($\mu\text{g/ml}$)*									
			<0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>	Teicoplanin	35	13	17	3	2						
	Vancomycin	35		5	30							
	Arbekacin	35	15	12	7				1			
methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	Teicoplanin	50	2	25	16	4		3				
	Vancomycin	50			28	19	3					
	Arbekacin	24	2	5	13	3		1				
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Teicoplanin	27	5	4	4	10	3		1			
	Vancomycin	27			14	13						
	Arbekacin	27	13	4	9	1						
coagulase-negative staphylococci	Teicoplanin	23	3	5		6	2	1	4	2		
	Vancomycin	23				12	11					
	Arbekacin	23	10	9		4						
<i>Enterococcus faecalis</i>	Teicoplanin	52	52									
	Vancomycin	52			18	30	4					

*Number of isolates inhibited with MIC.

Table 3. Isolation of drug-resistant strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using teicoplanin, vancomycin and arbekacin

Drugs	Break point ($\mu\text{g/ml}$)	No. of strains tested	No. of strains grown at break point	MIC ($\mu\text{g/ml}$)*				
				3.13	6.25	12.5	25	50
Teicoplanin	3.13	455	14	14	13	1	0	0
Vancomycin	3.13	455	0					
Arbekacin	3.13	455	7	17	10	6	1	0

*Number of isolates inhibited with MIC.

Table 4. Synergy of teicoplanin and β -lactam antibiotics against gram-positive cocci

Strains	Drugs	MIC (μ g/ml)											
		Teicoplanin	Imipenem	Vancomycin	Imipenem	Teicoplanin	Cefoperazone	Vancomycin	Cefoperazone	Teicoplanin	Piperacillin	Vancomycin	Piperacillin
<i>Staphylococcus aureus</i> K92-7	Alone	1.56	25	1.56	25	1.56	200	1.56	200	1.56	200	1.56	200
	Combination	0.78	0.0125	0.78	0.20	0.78	1.56	0.78	1.56	0.78	50	0.78	25
	FIC index	0.50	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.75	0.75	0.63	0.63
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 2	Alone	0.78	0.025	1.56	0.025	0.78	3.13	1.56	3.13	0.78	3.13	1.56	3.13
	Combination	0.39	0.0125	0.78	0.0125	0.39	0.20	0.78	0.20	0.39	0.20	0.78	0.20
	FIC index	1.00	1.00	1.00	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i> G9	Alone	1.56	25	1.56	25	1.56	6.25	1.56	6.25	1.56	100	1.56	100
	Combination	0.20	0.05	0.78	0.025	0.20	0.39	0.78	1.56	0.20	12.5	0.78	1.56
	FIC index	0.13	0.50	0.50	0.19	0.19	0.75	0.75	0.75	0.25	0.25	0.52	0.52
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> G82	Alone	6.25	100	3.13	100	6.25	100	3.13	100	6.25	200	3.13	200
	Combination	3.13	0.20	1.56	0.05	3.13	12.5	0.78	12.5	3.13	50	1.56	25
	FIC index	0.50	0.50	0.50	0.63	0.63	0.37	0.37	0.75	0.75	0.75	0.62	0.62
<i>Staphylococcus capitis</i> No. 33	Alone	6.25	100	3.13	100	6.25	100	3.13	100	6.25	200	3.13	200
	Combination	3.13	0.05	1.56	0.05	3.13	3.13	1.56	3.13	3.13	50	1.56	6.25
	FIC index	0.50	0.50	0.50	0.53	0.53	0.53	0.53	0.75	0.75	0.75	0.53	0.53

Combination ; shows the MIC at combination

単剤の MIC に比べて低くなった。 β -ラクタム剤のうち、TEIC、VCM との併用で MIC が単剤のそれに比べて著しく低くなった薬剤は IPM>CPZ>PIPC の順である。

同様にして菌株数を増やし MSSA, MRSA, *S. epidermidis*, 他の CNS それぞれに対する TEIC および VCM と β -ラクタム剤との併用を調べた。Table 5 に示した様に調べた菌株の大部分の Fractional inhibitory concentration (FIC) は 1.0 以下であったが、しかし、CNS (*S. haemolyticus* 2 株, *Staphylococcus saprophyticus* 1 株, *S. intermedius* 1 株, *Staphylococcus warneri* 1 株, *S. capitis* 1 株, *Staphylococcus hominis* 1 株, *Staphylococcus xylosum* 1 株) においては FIC が 1.0 より 2.0 未満を示す菌株が数株認められた。その内訳は、*S. intermedius*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. xylosum* のいずれかであった。

4. 対数増殖期の菌に対する TEIC の影響

Table 6 に示した如く、*S. aureus* MS 353 株とその変異菌 MS15009 株に対する TEIC、VCM の MIC は、菌数および培地 (STB と STA) により違いがみられ

た。TEIC の STA での MIC は MS353, MS15009 いずれの菌株も最終菌濃度 10^4 CFU/plate と 10^6 CFU/plate では 16~32 倍違った。 10^6 CFU/plate の MIC は MS353 株では $3.13 \mu\text{g/ml}$, MS15009 株では $3.13 \mu\text{g/ml}$ であった。これに対し STB での TEIC の MIC は MS353 株の場合、 10^6 CFU/ml では $0.39 \mu\text{g/ml}$, 10^4 CFU/ml では $0.20 \mu\text{g/ml}$ と STA に比べて STB での MIC の方が良好であり、MIC に及ぼす菌数の影響も少なかった。また MS15009 株では 10^6 CFU/ml では $0.20 \mu\text{g/ml}$, 10^4 CFU/ml では $0.05 \mu\text{g/ml}$ とこの場合も STB の方が STA に比べ低い MIC を示し、菌数の影響も MS353 株同様少なかった。そこで両菌株に対する STB における TEIC の増殖抑制効果について検討した。

対数増殖期の菌 10^6 CFU/ml に種々の濃度の TEIC を添加し、菌株の増殖に対する薬剤の影響を調べた。Fig. 1 に示した如く MS353 株では STB での TEIC の $1/4$ MIC 濃度の薬剤存在下では、薬剤無添加に比べやや菌の増殖が抑制されるものの、培養 5 時間後では対照とほぼ同程度の菌の増殖が見られた。1/2

Table 5. Synergy of teicoplanin and β -lactam antibiotics against gram-positive cocci

Strains	No. of strains tested	Combination with	Range of FIC index			Mean of FIC index
			<0.50	<1.00	<2.00	
methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	6	Teicoplanin—Imipenem	5	1	0	0.42
		Teicoplanin—Cefoperazon	4	2	0	0.51
		Teicoplanin—Piperacillin	1	5	0	0.62
		Vancomycin—Imipenem	4	2	0	0.50
		Vancomycin—Cefoperazon	3	3	0	0.50
		Vancomycin—Piperacillin	0	6	0	0.57
methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	6	Teicoplanin—Imipenem	0	5	1	0.79
		Teicoplanin—Cefoperazon	1	4	1	0.60
		Teicoplanin—Piperacillin	1	4	1	0.59
		Vancomycin—Imipenem	0	5	1	1.00
		Vancomycin—Cefoperazon	0	5	1	0.66
		Vancomycin—Piperacillin	1	5	0	0.57
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	Teicoplanin—Imipenem	3	2	1	0.55
		Teicoplanin—Cefoperazon	4	2	0	0.40
		Teicoplanin—Piperacillin	4	2	0	0.41
		Vancomycin—Imipenem	1	5	0	0.70
		Vancomycin—Cefoperazon	1	5	0	0.65
		Vancomycin—Piperacillin	2	4	0	0.57
Other coagulase-negative staphylococci	8	Teicoplanin—Imipenem	3	2	3	0.81
		Teicoplanin—Cefoperazon	0	6	2	0.81
		Teicoplanin—Piperacillin	1	6	1	0.68
		Vancomycin—Imipenem	3	5	0	0.75
		Vancomycin—Cefoperazon	1	7	0	0.71
		Vancomycin—Piperacillin	0	8	0	0.56

Number indicates the strains tested.

Table 6. Effect of medium on MIC of teicoplanin and vancomycin in *Staphylococcus aureus* mutant strains

Medium	Strains	Inoculum size	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
			Teicoplanin	Vancomycin
MH agar	MS353	10^6 /plate	3.13	6.25
		10^4 /plate	0.20	0.78
	MS15009	10^6 /plate	3.13	6.25
		10^4 /plate	0.10	0.78
	MS15009M21	10^6 /plate	1.56	3.13
		10^4 /plate	0.05	0.78
MH broth	MS353	10^6 /ml	0.39	0.78
		10^4 /ml	0.20	0.78
	MS15009	10^6 /ml	0.20	0.78
		10^4 /ml	0.05	0.78
	MS15009M21	10^6 /ml	0.10	0.78
		10^4 /ml	0.025	0.78

MS15009 and MS15009M21 are the mutants sensitive to lysozyme (see fig. 2).

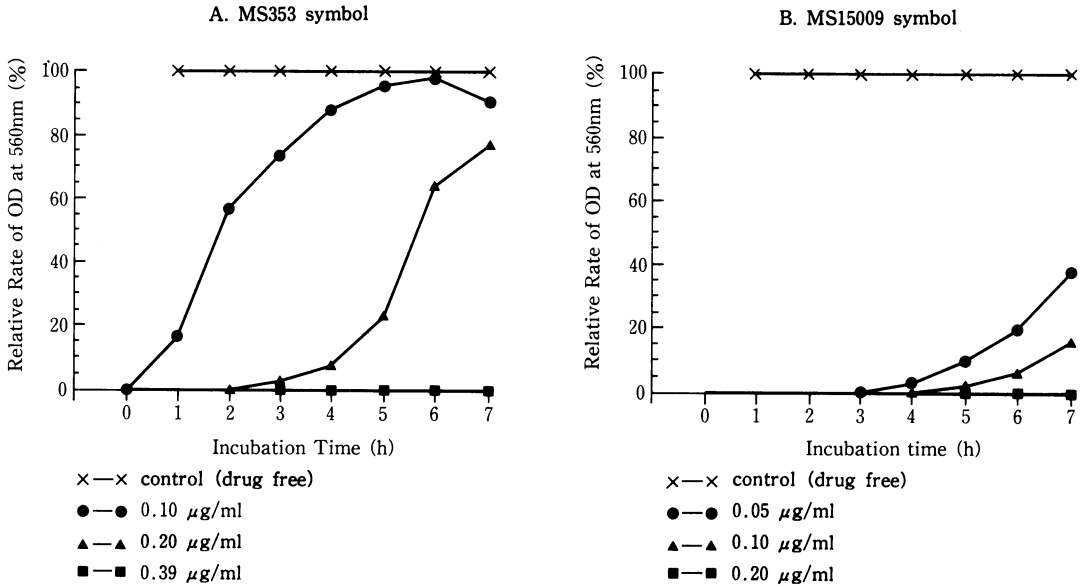


Fig. 1. Effect of teicoplanin on bacterial growth of *Staphylococcus aureus*

MIC 濃度の薬剤存在下では培養 4～5 時間後菌の増殖が見られ、7 時間目では対照の 76% 程度増殖した。しかし、MIC 濃度である 0.39 $\mu\text{g/ml}$ 添加した場合、菌の増殖は 7 時間目でも認められなかった。一方、MS15009 株では 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 処理 7 時間目で対照に比べ約 40% の増殖が見られ、0.10 $\mu\text{g/ml}$ ではさらにわずかの菌の増殖がみられたに過ぎず、MIC 濃度である 0.20 $\mu\text{g/ml}$ 処理では菌の増殖が完全に阻止され

た。

5. リゾチームと TEIC との作用

S. aureus MS353, MS15009, MS15009M21 株はリゾチーム感受性の程度が異なり、その MIC はそれぞれ >100, 25, 3.13 $\mu\text{g/ml}$ である。このリゾチームの感受性の違いが、本剤による菌の増殖抑制、ひいては TEIC の MIC の違いに反映しているか否かを検討した。Fig. 2 に示した如く、MS353 株においては 100 $\mu\text{g/}$

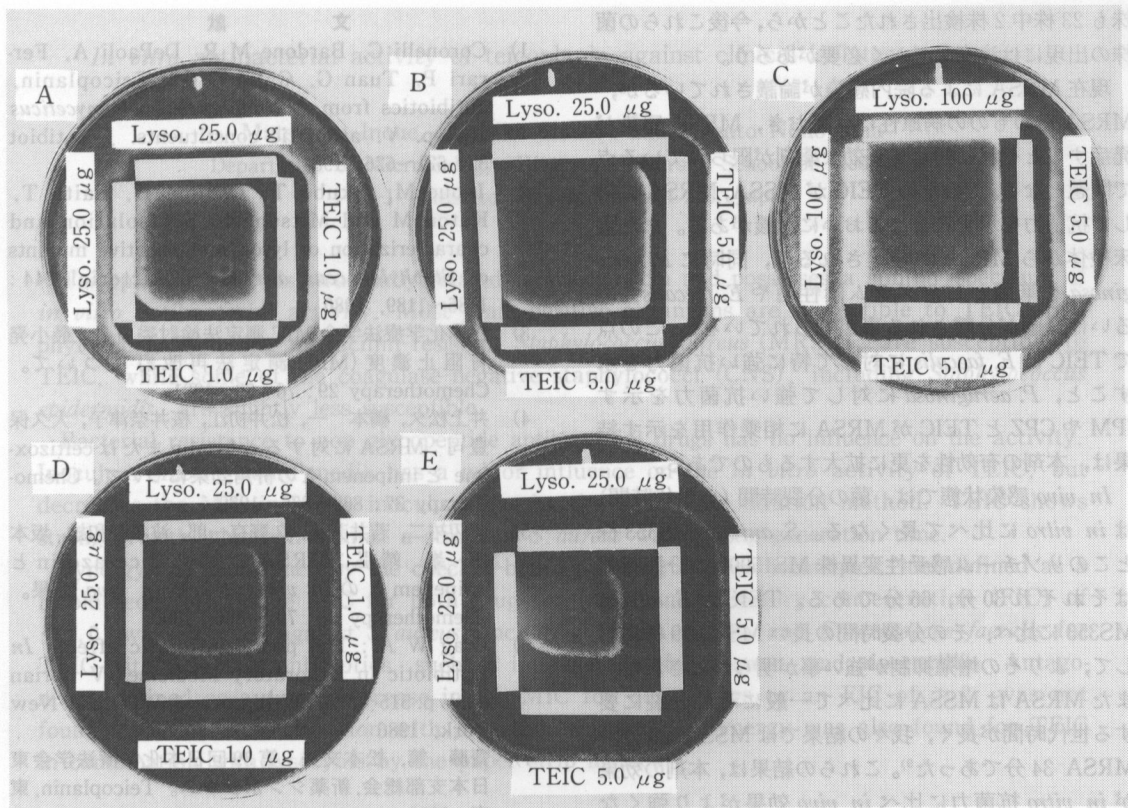


Fig 2. Paper-strip disk approximation test for *Staphylococcus aureus*

A and B: MS15009 (MIC for lysozyme in 25 µg/ml)

C : MS353 (MIC for lysozyme in more than 100 µg/ml)

D and E: MS15009M21 (MIC for lysozyme is 3.13 µg/ml)

TEIC : teicoplanin, Lyso. : lysozyme

diskのリゾチーム存在下でもTEICと併用効果は認められなかった。しかし、MS15009及びMS15009M21株においては、リゾチーム25 µg/disk、TEIC 5 µg/diskの各濃度の共存によって相乗作用が認められた。特に、MS15009M21株においてはTEICの濃度が1 µg/diskでも相当強い併用作用が認められた。

III. 考 察

TEICは既に報告された如く*S. aureus*を初めとした*Staphylococcus*属、*E. faecalis*、*S. pyogenes*などのグラム陽性菌に対して抗菌力を示したが、グラム陰性菌に対する抗菌力は弱かった¹⁾。本剤の抗菌力を対照薬として用いたVCM、ABKのそれと比べると次のようであった。即ち、菌種、菌株によって多少異なるが、MIC₈₀で比較した場合MSSAにおいてはTEIC 0.39 µg/ml、VCM 0.78 µg/ml、ABK 0.39 µg/ml、MRSAにおいてはTEIC 0.78 µg/ml、VCM 1.56

µg/ml、ABK 0.78 µg/ml、*S. epidermidis*に対してはTEIC 1.56 µg/ml、VCM 1.56 µg/ml、ABK 0.78 µg/mlであった。更に*E. faecalis*におけるMIC₈₀はTEIC 0.20 µg/ml以下、VCM 1.56 µg/mlであり、MRSAや*E. faecalis*に対するTEICの抗菌力は対照薬より優れていることを示している。しかし、CNSに対するMIC₈₀はABK 0.39 µg/ml、VCM 1.56 µg/mlであったのに対し、TEICのMIC₈₀は12.5 µg/mlであり、対照薬に比べ明らかに本剤の抗菌力は劣っていた。しかし、TEICには強いpost-antibiotic effect (PAE)が認められること^{6,7)}、本剤の血中濃度は比較的高く、薬剤の連続投与によりその濃度は5 µg/ml前後になることなどが明らかにされている。これらの結果からMICのやや高い傾向の見られたCNSの大部分は、臨床的に治療可能な範囲に入るものと推定される。しかし、CNSの中には25 µg/mlのMICを示す菌

株も 23 株中 2 株検出されたことから、今後これらの菌株の出現には注意しておく必要があろう。

現在 MRSA による院内感染が論議されているが、MRSA そのものの病原性はさておき、MRSA 感染が発症するとそれに対して有効な薬剤が限られている点で問題となる。そのため TEIC が MSSA, MRSA に対して抗菌力を示すことはおおいに意義がある。また臨床検体から MRSA が分離される際、同時に *P. aeruginosa* を筆頭としたグラム陰性菌や *E. faecalis*, あるいは真菌が分離される事が知られている⁹⁾。この点で TEIC は *E. faecalis* に対して特に強い抗菌力を示すこと、*P. aeruginosa* に対して強い抗菌力を示す IPM や CPZ と TEIC が MRSA に相乗作用を示す結果は、本剤の有効性を更に拡大するものである。

In vivo 感染状態では、菌の分裂時間（世代時間）は *in vitro* に比べて長くなる。*S. aureus* MS353 株とこのリゾチーム感受性変異株 MS15009 の分裂時間はそれぞれ 30 分、66 分である。TEIC が *S. aureus* MS353 に比べ、その分裂時間の長い MS15009 株に対して、よりその増殖抑制が強い事が明らかにされた。また MRSA は MSSA に比べて一般にその分裂に要する世代時間が長く、我々の結果では MSSA 23 分、MRSA 34 分であった⁹⁾。これらの結果は、本剤の効果が *in vitro* 抗菌力に比べ *in vivo* 効果がより強くなる可能性を示すものである。更に、MS353 と MS15009 株、リゾチーム超感受性変異菌である MS15009M21 株を用い、TEIC とリゾチームとの併用効果を調べたところ、1~5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の TEIC と生体内濃度に近い 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のリゾチームとの間に併用効果がみられた。この結果は菌の分裂時間に加え、菌の溶菌の強弱によっても TEIC の抗菌力が左右されることを示している。この結果は、*in vitro* 効果に比べ *in vivo* 効果の有効性を更に支持するものと考えられる。

一方、VCM や TEIC 耐性を担う plasmid が *E. faecalis* や *E. faecium* から分離されている^{10,11)}。この plasmid はいずれも伝達性であり、その宿主域は *Streptococcus sanguis*, *S. pyogenes*, *Streptococcus lactis* 等に限定されており、現在までのところ、この plasmid は *S. aureus* には伝達されず、伝達されたとしても耐性発現しないと報告されている。またこの plasmid 上には 38 kD ないしは 39 kD の膜蛋白を作る遺伝子が存在し¹²⁾、その DNA 塩基配列も決定されている¹³⁾。しかし、その機能は今のところ不明である。かかる VCM や TEIC 耐性を担う plasmid による耐性菌の出現についても、今後注意し、これらの耐性菌を選択しないような薬剤の使用が望まれる。

文 献

- 1) Coronelli C, Bardone M R, DePaoli A, Ferrari P, Tuan G, Gallo G G : Teicoplanin, antibiotics from *Actinoplanes teichomyceticus* nov.sp. V. aromatic constituents. J Antibiot 37: 621~626, 1984
- 2) Inoue M, Okubo T, Oshima H, Saito T, Katou M and Mitsuhashi S : Isolation and characterization of lysozyme-sensitive mutants of *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol 144 : 1186~1189, 1980
- 3) 日本化学療法学会 MIC 測定法検討委員会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 4) 井上松久, 橋本 一, 松井初江, 桜井奈津子, 大久保豊司 : MRSA に対する cefazolin または ceftizoxime と imipenem との併用効果について。Chemotherapy 37: 869~876, 1989
- 5) 渡辺祐二, 若井芳美, 久野京一郎, 波多野和雄, 坂本博, 峯 靖弘 : MRSA に対する cefazolin と imipenem との *in vitro* および *in vivo* 効果。Chemotherapy 38: 797~806, 1990
- 6) Crag W A : The post - antibiotic effect, *In Antibiotic in Laboratory Medicine* (V Lorian ed.) p. 515~536, William and Wilkins, New York, 1986
- 7) 齋藤 篤, 松本文夫 : 第 39 回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬シンポジウム。Teicoplanin, 東京, 1992
- 8) 四方田幸恵, 高橋綾子, 倉林良幸, 福村幸仁, 小林功, 井上松久 : 群馬大学附属病院におけるメチリン耐性ブドウ球菌 (MRSA) の分離状況。Chemotherapy 40: 879~885, 1992
- 9) 井上松久, 岡本了一, 野々山勝人, 長曾部紀子, 井田孝志 : MRSA の病原性 - 基礎の立場から。集中治療 5: 33~39, 1993
- 10) Shaes D M, Boucet A, Devine C, Shaes J H, Al - Obeid S and Williamson R : Inducible, transferable resistance to vancomycin in *Enterococcus faecalis* A 256. Antimicrob Agents Chemother 33: 198~203, 1989
- 11) Leclerq R, Derlot E, Weber M, Duval J and Coirvalin P : Transferable resistance in *E. faecium*. Antimicrob Agents Chemother 33: 10~15, 1989
- 12) A I - Obeid S, Collatz E and Gutmann L : Mechanism of resistance to vancomycin in *Enterococcus faecium* D 366 and *Enterococcus faecalis* A 256. Antimicrob Agents Chemother 34: 252~256, 1990
- 13) Sosio M, Lorenzetti R, Robbiati F and Denaro M : Nucleotide sequence to a teicoplanin resistance gene from *Actinoplanes teichomyceticus*. Biochem Biophys Acta 1089: 401~403, 1991

In vitro antibacterial activity of teicoplanin against clinical isolates of bacteria

Matsuhisa Inoue, Toshiko Hasobe and Masato Nonoyama
Department of Microbiology, Kitasato University School of Medicine
1-15-1 Kitasato, Sagamihara-shi 228, Japan

Teicoplanin (TEIC) is structurally related to vancomycin and possesses a similar spectrum of *in vitro* antibacterial activity. Most gram-positive organisms are susceptible to TEIC. Staphylococci, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), are susceptible to TEIC, while some of the coagulase-negative staphylococci (CNS), including *Staphylococcus epidermidis*, are slightly less susceptible.

Bacterial resistance to non-glycopeptide antibacterial drugs has no influence on the activity. Inoculum size in liquid media has a minor influence on the *in vitro* activity of TEIC, but decreases the MIC in heavy inoculum size by the agar plate dilution method. TEIC shows strong growth inhibition against a strain of *S. aureus* with a long generation time.

Synergy, as determined by the checker-board doubling dilution techniques, and defined as a 2-fold reduction in the MIC for both drugs or fractional inhibitory concentration (FIC) of < 1.0 , was observed against *S. aureus*, including MRSA, CNS, and *Enterococcus faecalis* for TEIC with β -lactam antibiotics, such as imipenem, cefoperazone, and piperacillin. Antagonism, defined as a 4-fold increase in the MIC for both drugs or an FIC of > 2 , was not found for TEIC in combination with β -lactam antibiotics. Synergy was also found for TEIC in combination with lysozyme by the paper strip method.