

マウスにおける点鼻接種メチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA) の盲腸への移行・増殖におよぼす諸因子の影響

久田 正純¹⁾・真辺 忠夫¹⁾・加藤 直子²⁾・小此木研二²⁾

¹⁾名古屋市立大学医学部医学部第一外科学教室*

²⁾武田薬品工業株式会社創薬第三研究所

(平成6年9月14日受付・平成6年12月14日受理)

10⁶CFU のメチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA) N 133 をマウス鼻腔内に接種すると、接種3時間後には盲腸内から約10⁵CFU 検出され、その菌数は1日後に10³CFU、3日後に10²CFU と減少したが、5日後には再び10³CFU 近くまで増加し10日後もほぼ同数が維持された。接種前日から10 mg/kg の ampicillin を1日2回4日間皮下投与するとMRSAの盲腸内増殖がやや促進された。このMRSAの盲腸内移行増殖はcefotiamでやや抑制され、cefazopranで完全に阻止された。ストレスを加えるために接種直後に開腹手術を行うか、免疫能を低下させるために接種前に200 mg/kg の cyclophosphamide または dexamethasone を投与しておく、盲腸内でのMRSAの増殖が促進された。一方、接種前に *Enterococcus faecium* を経口投与しておく、開腹手術等のストレスによるMRSAの盲腸内異常増殖が抑制された。以上の結果から、抗生物質が必ずしもMRSAの盲腸内での増殖を促進するわけではなく、むしろ免疫低下や手術によるストレスの影響の方が大きいことが示唆された。

Key words: MRSA, 盲腸内増殖, 開腹手術, 抗生物質, *Enterococcus faecium*

消化管内でメチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA) が急激に増加しておこるMRSA腸炎は、胃切除術をはじめとする上部消化管手術後に好発する一種の菌交代性腸炎であり、我が国では1985年頃から報告され始めた¹⁻⁴⁾。このMRSA腸炎は、術後早期に頻脈を伴う高熱と頻回の水様性下痢を呈し、MRSA感染症のなかでももっとも重篤な感染症のひとつとなっている。術後MRSA腸炎発症の原因は院内感染菌によるところが大きく、対策としては院内感染予防がもっとも重要とされている。MRSAに関する知識が普及してきたためにMRSA感染症が増加しはじめた頃と比べてMRSA腸炎で重大な転帰をむかえる患者は減ったが、治療が困難なことから今でも死亡するケースがある。

MRSAは健康人においてさえもしばしば鼻腔内に定着している。保菌者のすべてがMRSA腸炎を発症するわけではないが、MRSA腸炎は鼻腔から移行して腸管内に定着した菌が原因となって起こる可能性が高い。そこで、マウスを用い鼻腔内に接種したMRSAの盲腸内への移行・増殖におよぼす諸因子の影響を調べた。

なお、本論文の要旨は第41回日本化学療法学会西日本支部総会シンポジウム「化学療法研究における感染実験の意義と展望」において発表した。

I. 材料と方法

1. 菌株

S. aureus N 133 は1983年に患者の喀痰から分離され

たメチシリン耐性株(MRSA)で長崎大学熱帯医学研究所の松本教授より分与された。日本化学療法学会標準法に従い、接種菌量10⁴CFU/スポット、Mueller-Hinton培地を用いた寒天平板希釈法で測定したN 133に対する各種抗生物質のMICはTable 1のごとくである。

生菌製剤の一成分である腸球菌(*Enterococcus faecium*)は4.8×10⁹CFU/mlの濃度にスキムミルクに懸濁して凍結した状態でピオフェルミン製薬研究部より分与された。

2. 薬剤

Methicillin (DMPPC, 萬有), ampicillin (ABPC, 明治製薬), cefotiam (CTM, 武田), kanamycin (KM, 明治製薬), gentamicin (GM, シグマ), cyclophosphamide (CY, 塩野義), dexamethasone (DX, シグマ) は市販品を用いた。Cefazopran (CZOP) は武田薬品研究所で合成されたものを用いた。

3. 動物

ICRマウス(日本チャールスリバー), オス, 5週齢を使用した。マウスは固形飼料(CE-2, 日本クレア)および水道水を自由に摂取させ、室温24±1°C, 湿度50±5%, 人工照明(午前7時点灯, 午後7時消灯)の環境下で飼育した。なお、糞からの2次感染を防ぐため飼育は金網床のケージで行い、1群5匹または10匹とした。

4. 接種菌液の調製

S. aureus N 133 を Brain Heart Infusion (BHI,

* 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1

Table 1. Susceptibility of *Staphylococcus aureus* N 133 to several antibiotics

strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	methicillin	ampicillin	cefotiam	cefazopran	gentamicin	kanamycin
<i>S. aureus</i> N 133	>100	25	>100	25	>100	>100

Difco) で 37°C 18 時間静置培養し、培養終了後菌液を BHI で 10 倍希釈して接種菌液 ($3.4 \times 10^7 \sim 9.2 \times 10^7$) CFU/ml とした。

5. MRSA の接種

ペントバルビタール (50 mg/kg) を腹腔内投与して麻酔したマウスの鼻腔内に $6.8 \times 10^5 \sim 1.8 \times 10^6$ CFU の MRSA を含む上記菌液 20 μl をマイクロピペットを用いて接種した。

6. 薬剤および腸球菌の投与

抗生物質は滅菌生理食塩水に溶解、-40°C に凍結して保存し、投薬毎に使用直前に室温で解凍し、ただちに本文に記載した量を皮下投与した。Cyclophosphamide は使用直前に注射用蒸留水 (大塚) で溶解し、ただちに腹腔内投与した。Dexamethasone はめのう乳鉢を用いて 0.2% carboxymethyl cellulose 溶液中で均一な懸濁液として皮下投与した。スキムミルクに懸濁した *E. faecium* 菌液は -80°C に凍結して保存し、投与毎に使用直前に室温で解凍しマウス当たり 9.6×10^8 CFU を経口投与した。

7. 開腹手術

ペントバルビタール麻酔下、MRSA を接種した直後のマウスに中腹部正中切開を施した。すなわち、眼科用ハサミで皮膚および腹膜を約 1 cm 切開し、腹腔内に外気を送り込みただちにラット血管用曲針を用いて絹糸で縫合した。

8. 盲腸内 MRSA 生菌数の測定

MRSA 接種後本文に記述した時点で 1 群 5 匹または 10 匹のマウスを屠殺し、臓器内の MRSA 菌数を測定した。肺および盲腸内菌数を測定する場合は、0.5~1 分間のエーテル麻酔を施したマウスの腋窩動静脈を切断して放血致死させた後に肺および盲腸を無菌的に摘出し、盲腸内菌数のみを測定する場合は約 3 分間のエーテル麻酔で屠殺したマウスから盲腸を無菌的に摘出した。摘出した肺および内容物を含む盲腸は 3 ml の滅菌精製水とともに自動ホモジナイザー-AHS-1 (大日本精機) でホモジナイズした。このホモジネートを滅菌精製水で適宜希釈し、0.1 ml を 20 $\mu\text{g/ml}$ の GM および 20 $\mu\text{g/ml}$ の KM を添加したマンニット食塩培地上に塗布した。37°C 24 時間培養後、形成されたコロニー数を計測し、臓器当たりの菌数を算出した。

II. 結 果

1. 盲腸内 *S. aureus* N 133 の選択的検出

S. aureus N 133 を点鼻接種したマウスの盲腸ホモジネートを各 20 $\mu\text{g/ml}$ の GM および KM 含有マンニット食塩培地に接種したとき生育した菌の性状を ID テスト (ニッスイ) により、また methicillin, tetracycline, GM, ofloxacin および novobiocin に対する薬剤感受性を、薬剤含有 Mueller-Hinton Agar (MHA, Difco) に菌液をスポット接種することにより調べた (Table 2)。調べた 10 コロニーの回収菌すべてが接種菌 *S. aureus* N 133 の性状と一致した。また、無処置マウスの盲腸ホモジネートに *S. aureus* N 133 を添加して上記選択培地に接種した場合、100% の *S. aureus* N 133 が選択培地上にコロニーを形成し、他の菌の生育は認められなかった。上記選択培地で盲腸内に移行した *S. aureus* N 133 が定量的に検出できることが確認された (データは示していない)。

2. 点鼻接種後の盲腸内生菌数推移

10^6 CFU の *S. aureus* N 133 を点鼻接種した時の盲腸内生菌数の推移を調べた。接種 1 時間後には盲腸内に MRSA は存在せず接種された菌のほとんどが肺に存在していた。3 時間後には接種した菌量の 10% に相当する 10^5 CFU の菌が盲腸から回収されたが、24 時間後には約 2 オーダー減少した (Fig. 1)。接種 3 日後には盲腸内菌数はさらに減少したが 5 日後には 6×10^2 CFU に増加し、10 日後でも 5 日後の菌数がほぼ維持されていた (Fig. 2)。なお、血中からはいずれの時間においても感染菌は検出されなかった。

3. 抗生物質の影響

MRSA の腸管内増殖に抗生物質が促進的に作用する可能性が考えられるので、MRSA 接種 1 日前から 4 日間 10 mg/kg の ABPC または CTM を 1 日 2 回皮下投与したときの接種 7 日後の盲腸内生菌数 (Fig. 3) および、同様に 20 mg/kg の ABPC または CZOP を皮下投与したときの MRSA 接種 5 日後の盲腸内生菌数 (Fig. 4) を測定した。なお、抗生物質の投与量は成人での 1 回当たり投与量 250~1,000 mg をもとに 10 または 20 mg/kg に設定した。なお、20 mg/kg の ABPC の投与でマッコンキー培地に生育するグラム陰性桿菌が盲腸内で若干増加した。

Table 2. Characteristics of bacterial clones recovered from caecum of mice which were intranasally inoculated with *Staphylococcus aureus* N 133

	<i>S. aureus</i>		Clones recovered from caecum of mice								
	N 133	a	b	c	d	e	f	g	h	i	
Fermentation of											
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Ribose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Turanose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
N-acetylglucosamine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Alkaline phosphatase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Urease	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Arginine dihydrase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Susceptibility to											
Methicillin	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	
Tetracycline	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	
Gentamicin	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	
Ofloxacin	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	
Novobiocin	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	

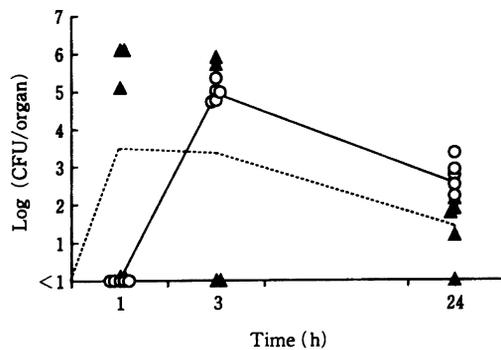


Fig. 1. Viable cell counts of *Staphylococcus aureus* N 133 in the caecum and lungs of mice after intranasal inoculation. Mice were intranasally inoculated with 1.8×10^6 CFU of *S. aureus* N 133. The caecum and lungs of mice were homogenized and viable cell counts in the homogenate were determined as described in Materials and Methods. Caecum (○), Lung (▲).

Vehicle の生理食塩水を投与した対照マウスでは、10 匹中 5 匹 (Fig. 3) または 10 匹中 2 匹 (Fig. 4) で感染菌が検出されなかった。ABPC を投与した場合、Fig. 3 の実験では若干菌数が増加したが、Fig. 4 の実験では菌数は対照群とほぼ同数であった。一方、CTM

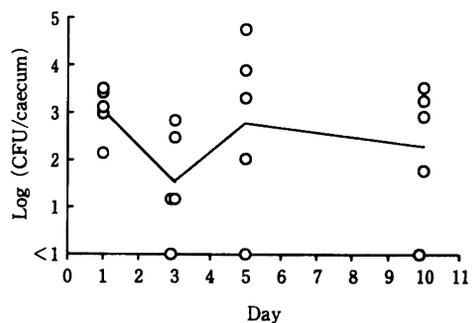


Fig. 2. Viable cell counts of *Staphylococcus aureus* N 133 in the caecum of mice after intranasal inoculation. Mice were intranasally inoculated with *S. aureus* N 133. The mouse caecum was homogenized and viable cell counts in the homogenate were determined as described in Materials and Methods.

投与群では盲腸内生菌数は平均 2×10^2 CFU で対照群の 2×10^2 CFU よりも少なく (Fig. 3), CZOP 投与群では感染菌がまったく検出されなかった (Fig. 4)。同様の結果は別の実験でも得られ、上記結果の再現性が認められた。

4. 開腹手術の影響

MRSA 接種直後に開腹手術を施した時の接種 5 日後

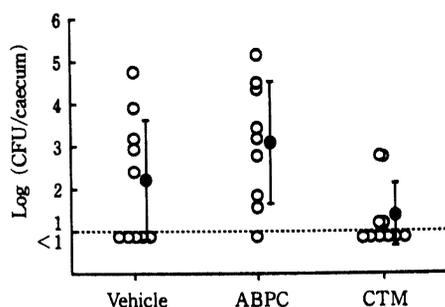


Fig. 3. Influence of ampicillin (ABPC) and cefotiam (CTM) on the growth of intranasally inoculated *Staphylococcus aureus* N 133 in the caecum. Mice were intranasally inoculated with *S. aureus* N 133. Antibiotics were administered subcutaneously at a dose of 10 mg/kg twice a day for four days starting on the day before inoculation. Viable cell counts of *S. aureus* N 133 in the caecum were determined 7 days after inoculation. Open circles indicate viable cell counts in individual mice. Closed circles and bars indicate geometric means and standard deviations, respectively. Dotted line indicates the limit of detection.

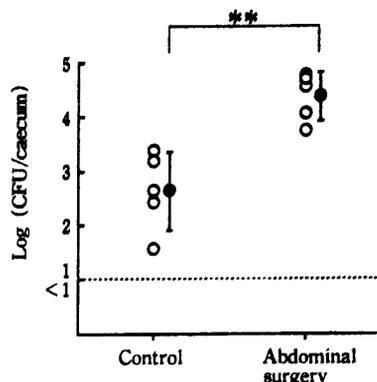


Fig. 5. Influence of abdominal surgery on the growth of intranasally inoculated *Staphylococcus aureus* N 133 in the caecum. Mice underwent abdominal surgery soon after intranasal inoculation of *S. aureus* N 133. Viable cell counts of *S. aureus* N 133 in the caecum were determined 5 days after inoculation. Open circles indicate the viable cell count in individual mice. Closed circles and bars indicate geometric means and standard deviations, respectively. Dotted line indicates the limit of detection. **P<0.01 (Mann-Whitney test)

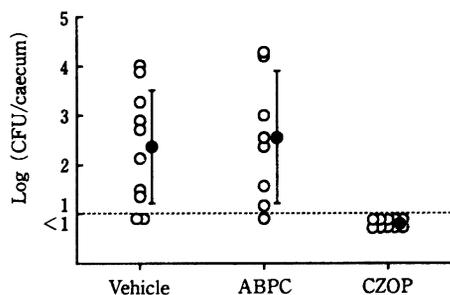


Fig. 4. Influence of ampicillin (ABPC) and ceftiofan (CZOP) on the growth of intranasally inoculated *Staphylococcus aureus* N 133 in the caecum. Mice were intranasally inoculated with *S. aureus* N 133. Antibiotics were administered subcutaneously at a dose of 20 mg/kg twice a day for four days starting on the day before inoculation. Viable cell counts of *S. aureus* N 133 in the caecum were determined 5 days after inoculation. Open circles indicate viable cell counts in individual mice. Closed circles and bars indicate geometric means and standard deviations, respectively. Dotted line indicates the limit of detection.

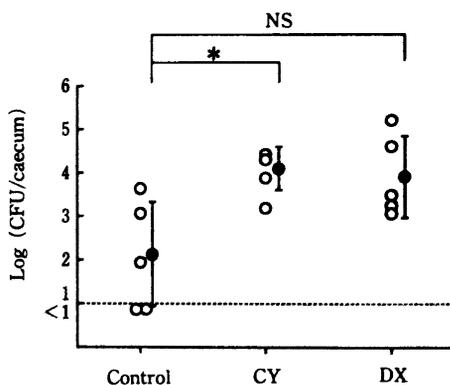


Fig. 6. Influence of immunosuppression on the growth of intranasally inoculated *Staphylococcus aureus* N 133 in the caecum. Mice were immunosuppressed by intraperitoneal administration of 200 mg/kg of cyclophosphamide (CY) or subcutaneous administration of 200 mg/kg of dexamethasone (DX) 3 days or 1 day, respectively, before intranasal inoculation of *S. aureus* N 133. Viable cell counts of *S. aureus* N 133 in the caecum were determined 3 days after infection. Open circles indicate viable cell counts in individual mice. Closed circles and bars indicate geometric means and standard deviations, respectively. Dotted line indicates the limit of detection. *P<0.05; NS, not significant (Mann-Whitney test)

の盲腸内生菌数を測定した (Fig. 5)。対照群の盲腸内生菌数の平均は 4×10^2 CFU, 手術処置群の平均は 2×10^4 CFU であり手術を施すと有意に菌数が増加した。

5. 免疫抑制の影響

MRSA 接種 3 日前に 200 mg/kg の CY を腹腔内に, または 1 日前に 200 mg/kg の DX を皮下に投与し, 対照群で菌数をもっとも減少する感染 3 日後の盲腸内生菌

数を測定した (Fig. 6)。対照群の平均菌数 1×10^2 CFU に対し, CY 投与群では平均 1×10^4 CFU, DX 投与群では平均 8×10^3 CFU の菌が検出され免疫抑制によって有

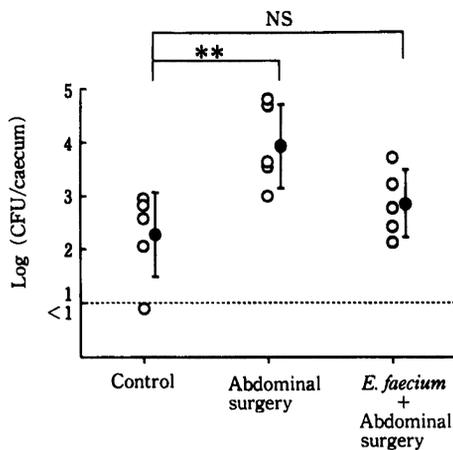


Fig. 7. Inhibitory effect of *Enterococcus faecium* against growth of intranasally inoculated *Staphylococcus aureus* N 133 in the caecum. Mice underwent abdominal surgery soon after intranasal inoculation of *S. aureus* N 133 as described in Fig. 4. Mice of one group were orally administered with 9.6×10^8 CFU of *E. faecium* twice a day for 3 days until the day before inoculation of *S. aureus* N 133. Viable cell counts of *S. aureus* N 133 were determined 5 days after inoculation. Open circles indicate viable cell counts in individual mice. Closed circles and bars indicate geometric means and standard deviations, respectively. Dotted line indicates the limit of detection. ** $P < 0.01$; NS, not significant (Mann-Whitney test)

意に菌数が増加した。また、Figs. 2~4, 6 に示したように対照群では一部のマウスで MRSA が検出されないことが多いが、免疫抑制マウスでは常に全例のマウスから MRSA が検出された。

6. 腸球菌経口投与の影響

MRSA 接種 3 日前から 1 日前まで 10^9 CFU の *E. faecium* を 1 日 2 回経口投与したマウスと、無処置のマウスに対し、接種直後に開腹手術を施し、5 日後の盲腸内生菌数を測定した (Fig. 7)。開腹手術のみの群の盲腸内生菌数は平均 8×10^3 CFU で対照群平均の 2×10^2 CFU より有意に多かったが、*E. faecium* をあらかじめ投与しておき開腹手術をした群では平均 7×10^2 CFU であり、対照群に近い菌数であった。

マウスに 50~250 mg/kg の ABPC を投与すると腸内細菌叢が変動することが報告されている^{7,9,11)}。そこで MRSA 接種 1 日前から 1 日 2 回 4 日間 100 mg/kg の ABPC を皮下に、スキムミルクに懸濁した 10^9 CFU の *E. faecium* を経口で投与し、MRSA 接種 7 日後の盲腸内生菌数を測定した (Fig. 8)。ABPC に加えてスキムミルクを投与した群の盲腸内生菌数は平均 6×10^3 CFU で、生理食塩水のみを皮下投与した群の 6×10^2 CFU より多かった。一方、ABPC に加えて *E. faecium* を投与

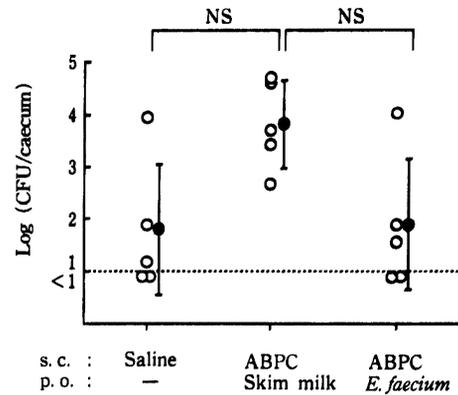


Fig. 8. Inhibitory effect of *Enterococcus faecium* against growth of intranasally inoculated *Staphylococcus aureus* N 133 in the caecum. Ampicillin (ABPC) or saline was administered subcutaneously at a dose of 100 mg/kg. Skim milk with or without 9.6×10^8 CFU of *E. faecium* was administered orally. Both were administered twice a day for four days starting on the day before inoculation. Viable cell counts of *S. aureus* N 133 were determined 5 days after inoculation. Open circles indicate viable cell counts in individual mice. Closed circles and bars indicate geometric means and standard deviations, respectively. Dotted line indicates the limit of detection. NS, not significant (Mann-Whitney test)

した群の盲腸内生菌数は平均 8×10^2 CFU で生理食塩水のみを投与した群の 6×10^2 CFU とほぼ同数であった。

III. 考 察

メチシリン耐性 *S. aureus* N 133 をマウスに点鼻接種したところ、3 時間後には盲腸内に接種菌量の約 10 分の 1 が検出されたが、3 日後までは減少し続け、その後増加して少なくとも 10 日後までほぼ一定の菌数が維持された (Figs. 1, 2)。このことから、本実験系は鼻腔を侵入門戸とした MRSA が数時間のうちに消化管を経由して盲腸内まで到達し、生体による初期の除菌をまぬがれた菌が比較的長期間盲腸内に存在し続け増殖する系であることが明らかとなった。この菌が定着状態で維持されているのかやがて排除されるのかを明らかにするには、より長期の観察を要する。また、感染 3 日後以後の盲腸内生菌数は個体差が大きく、一部のマウスで MRSA が検出されなかった (Fig. 2)。これらのマウスは早期に菌を排除してしまったものと思われる。井田ら¹¹⁾は腸管に *S. aureus* を保有しているマウスでは、経口接種した MRSA が腸管から排除されやすいことを報告しており、菌の排除能には個体間で異なる常在フローラが関係している可能性も考えられる。しかし、我々の実験では CY 処理等で MRSA の排除が抑制されたこと

から、常在フローラ以外の因子が菌の排除能に深くかかわっていることが示唆された。

一般に、抗生物質投与によって正常な腸内フローラが変動しMRSAが定着しやすくなり、MRSA腸炎発症の原因となると考えられている。そこで鼻腔から移行した*S. aureus* N 133の盲腸内増殖におよぼす抗生物質の影響を調べた。ABPCはMRSAの盲腸内増殖をやや促進する傾向を示し、CTMはやや抑制し、CZOPは完全に阻止した(Figs. 3, 4)。このことから*S. aureus* N 133の盲腸内への移行および増殖におよぼす影響は薬剤によって異なることが示唆された。ABPCの*S. aureus* N 133に対するMICは25 µg/ml、CTMのそれは>100 µg/ml、CZOPは25 µg/mlである。一方、腸内嫌気性菌の多くに対してABPCは強い抗菌力を示し、マウス腸内フローラを乱す^{7,9,11)}が、CTMおよびCZOPの嫌気性菌に対する抗菌力は中等度である⁵⁻⁷⁾。*S. aureus* N 133の盲腸内増殖におよぼす影響が薬剤によって異なる理由は、本菌の薬剤感受性の違いからだけでは説明がつかず、マウスの腸内常在菌叢におよぼす影響の違いも関与していると思われる。MRSA腸炎発症に関与していると言われている第3世代セフェム^{2,3,8,10)}の影響を今後検討する必要があるが今回使用した薬剤に関して言えば、MRSAの盲腸内増殖に対する促進作用は比較的弱いと考えられる。

MRSA腸炎は消化器外科を中心に入院患者の手術後に発症した例が多数報告されている¹⁻⁴⁾。入院患者が臨床で遭遇する状況を考え、点鼻接種直後のマウスに開腹手術を施し、接種5日後の盲腸内生菌数を測定した。開腹手術を施すと*S. aureus* N 133の盲腸内増殖が促進された(Fig. 5)。今回の実験では消化管そのものには何の処置も施さなかったことから、手術によるストレスがマウスの免疫能を低下させ、盲腸内増殖を促進したものと思われる。このことはCYまたはDXで免疫能を低下させたマウスに*S. aureus* N 133を点鼻接種した場合、対照群に比べて盲腸内生菌数が有意に多かった(Fig. 6)ことから支持される。正常マウスで減少する3日後の盲腸内菌数が、CYまたはDX投与マウスでは減少しなかった。免疫能低下マウスでは初期の菌の排除が十分行えず、結果として盲腸内増殖を促進する形となったと思われる。

一方、多剤耐性乳酸菌製剤は、抗生物質投与時における正常な腸内フローラの維持に有効で¹²⁾術後腸炎の発症を抑制することが報告されている¹³⁾。腸内フローラの変調を防ぐ目的で、本実験系においても同製剤に含まれる*E. faecium*を使用した。*S. aureus* N 133を点鼻接種前に*E. faecium*を経口投与したところ、対照群よりも盲腸内増殖が抑えられることはなかったが手術による盲腸内増殖促進は抑制された(Fig. 7)。また、接種前日か

ら1日2回4日間ABPCを皮下に、スキムミルクを経口で投与するとABPC投与単独の場合より顕著にMRSAの盲腸内増殖が促進された(Fig. 8)。この盲腸内MRSAの増殖促進は、ABPCによる腸内フローラの攪乱にABPCとスキムミルクの頻回投与によるストレスが加わったことが原因と考えられる。この場合もスキムミルクに*E. faecium*を混入して投与することでMRSAの盲腸内異常増殖が抑制された。これらの結果から、生菌製剤を前投与しておくことMRSAの盲腸内での異常増殖を抑制する可能性が示唆される。

以上のことより、MRSAの腸管内への移行増殖におよぼす抗生物質の影響は弱く、むしろ免疫低下や手術によるストレスの影響の方が大きいことが示唆された。

文 献

- 1) 古川良幸, 他: Methicillin cephem 耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)による toxic shock syndrome 3 症例の臨床経験。感染症誌 60: 1147~1153, 1986
- 2) 保里恵一, 由良二郎, 品川長夫, 櫻井 敏, 真下啓二, 水野 章: 術後感染性腸炎, 特にMRSA腸炎の実態—全国アンケート調査結果を中心に—。感染症誌 63: 701~707, 1989
- 3) 小西敏郎, 吉田純司, 平田 泰, 森 潔, 平石守, 出月康夫, 奥住捷子: 外科手術後のMRSA感染症—とくに胃切除後の腸炎型MRSA感染症の診断と対策—。最新医学 44: 2531~2537, 1989
- 4) 岩井重富, 田中日出和, 阿久津昌久, 加澤玉恵, 張遠春, 田中 隆: MRSA腸炎対策とその成果。化学療法法の領域 9: 1481~1488, 1993
- 5) 渡辺邦友, 江崎孝行, 村田加寿美, 渡辺 泉, 今村博務, 甲畑俊郎, 二宮敬字, 上野一恵, 鈴木祥一郎: Cefotiam (SCE-963)の嫌気性菌および好気性菌に対する抗菌作用。Chemotherapy 27 (S-3): 35~44, 1979
- 6) 渡辺邦友, 加藤直樹, 田中香お里, 田中保知, 加藤はる, 上野一恵: 新規セフェム系抗菌剤 cefozopran の嫌気性菌に対する抗菌作用およびマウス盲腸内細菌叢への影響。Chemotherapy 41 (S-4): 46~53, 1993
- 7) George S E, Walsh D B, Stead A G, Claxton L D: Effect of ampicillin-induced alterations in murine intestinal microbiota on the survival and competition of environmentally released *Pseudomonas*. Fundam. Appl. Toxicol. 13: 670~680, 1989
- 8) Van Ogtrop M L, Guiot H F L, Mattie H, Van Furth R: Modulation of the intestinal flora of mice by parenteral treatment with broad-spectrum cephalosporines. Antimicrob. Agents Chemother. 35: 976~982, 1991
- 9) 山口恵三, 他: 白血球減少マウスをモデルとした敗血症の誘因と発症機序についての検討。感染症誌 63: 195~202, 1989
- 10) 川井邦彦: 実験的術後 methicillin 耐性黄色ブドウ球菌腸炎の検討。日消外会誌 27 (4): 876~883, 1994
- 11) 井田孝志, 田村 淳, 河原條勝己, 嶋田甚五郎: MRSAのマウス腸管内への定着条件に関する検討。Chemotherapy 42: 923~930, 1994

- 12) 中村 肇, 松尾雅文, 村上龍助, 松尾 保, 公文康, 山下昌之, 羽田野守: セファレキシシン投与時の糞便菌叢の正常維持ならびに改善に及ぼすビオフィェルミン R の併用効果。小児科臨床 37: 2181~2188, 1984
- 13) 森越栄太, 佐藤薫隆, 向井佐志彦, 為我井芳郎, 渡辺一彦: 術後 MRSA 腸炎の対策—とくに抗菌剤投与法見直しの効果について—。外科治療 69: 589~594, 1993

Studies on colonization of mouse caecum by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Masazumi Hisada¹⁾, Tadao Manabe¹⁾, Naoko Kato²⁾
and Kenji Okonogi²⁾

¹⁾First Department of Surgery, Nagoya City University Medical School, Nagoya, Japan

²⁾Pharmaceutical Research Laboratories III, Takeda Chemical Industries, Ltd.

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) N 133 was intranasally inoculated to mice. Three hours after inoculation with 10^6 CFU of *S. aureus* N 133, 10^5 CFU of the bacteria was detected in the caecum. The viable cell count in the caecum decreased to 10^2 CFU three days after inoculation but increased again to approximately 10^3 CFU five days after inoculation. And the cell level was maintained for at least ten days. Ampicillin increased the viable cell count slightly when administered subcutaneously at a dose of 10 or 20 mg/kg twice a day for four days starting on the day before inoculation, whereas cefotiam suppressed growth slightly, and cefozopran inhibited it completely. When mice underwent abdominal surgery to provide stress or were administered 200 mg/kg of cyclophosphamide or dexamethasone in order to suppress immunity, the growth of MRSA in the caecum was enhanced significantly. On the other hand, oral administration of *Enterococcus faecium* before inoculation suppressed the excessive growth of MRSA induced by abdominal surgery. These results suggest that immunosuppression and stress by abdominal surgery play more important roles than antibiotics in the growth of MRSA in the caecum.