

# MRSA における PBP-2' 誘導能と耐性化との関係

— Cefminox と他の  $\beta$ -ラクタム系薬の比較 —

石井 孝弘<sup>1,2)</sup>・笹島 通夫<sup>1)</sup>・刑部 章子<sup>1)</sup>・折笠 義則<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 明治製菓薬品総合研究所\*

<sup>2)</sup> 北里大学医学部微生物学教室

(平成 8 年 5 月 13 日受付・平成 8 年 9 月 10 日受理)

MRSA 増加の原因は第 3 世代セフェム系薬の使用にあると考えられている。今回著者らはすべての第 3 世代セフェム系薬がその要因となるのか否かを検討するために、cefminox (CMNX) および他  $\beta$ -ラクタム系薬の MRSA PBP-2' 誘導能と耐性化との関係について検討し、以下の結果を得た。

1. 臨床分離 MRSA 100 株に対し、血中濃度と MIC の関係から、CMNX および ceftizoxime (CZX) はヒト常用投与量で得られる血中濃度域では抗菌力を示さなかったが、flomoxef (FMOX) および imipenem/cilastatin (IPM/CS) はそれぞれ 7 %, 20 % の株に抗菌力を示した。

2. IPM/CS および FMOX の高度耐性菌選択頻度は、本薬剤に感受性である MRSA Y-782 において高かったが、感受性の低い MRSA Y-112 では低かった。一方、いずれの菌株に対しても感受性の低い CMNX, CZX は高度耐性菌を選択しなかった。

3. MRSA Y-782 に対し  $\beta$ -ラクタム系薬をヒト常用投与量で得られる血中濃度域で接触させた場合、CMNX, CZX は MIC に変化をおよぼさなかったが、FMOX および IPM/CS は 4 から 32 倍 MIC の上昇した耐性菌を選択した。

4. MRSA Y-112 を低濃度の薬剤存在下で培養すると、CMNX は他の  $\beta$ -ラクタム系薬と同様に PBP-2' を誘導し、その産生量を増加させた。しかし、この菌を薬剤非含有培地に 1 回継代し薬剤を除去すると PBP-2' の産生量は薬剤非作用時と同量まで減少した。

以上のことから CMNX および CZX は MRSA の PBP-2' 誘導能が高くても常用投与量で得られる血中濃度域では抗菌力を示さないことから高度耐性菌を選択しないことが示唆された。

**Key words:** MRSA,  $\beta$ -ラクタム系薬, 高度耐性変異, PBP-2' 誘導能

わが国ではメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) は 1980 年に入ってから注目された<sup>1,2)</sup>。そして 1985 年以降、MRSA の検出頻度や院内感染に関する報告が多くみられるようになった。それと共に MRSA による院内感染症は社会的に大きな問題となり、その対策が積極的に検討、実施され、今日に至っている。

MRSA の分離率の上昇とともに、MRSA は臨床で多用されている  $\beta$ -ラクタム系薬や他の多くの薬剤に対し高度耐性を示すようになった。この高度耐性化のメカニズムは、ブドウ球菌に対して抗菌力の弱い第 3 世代セフェム系抗生物質の使用によって  $\beta$ -ラクタム系薬に対して親和性の低いペニシリン結合蛋白 (PBP-2') が誘導産生されることにあると考えられている<sup>3-9)</sup>。そこで、著者らはいずれのセフェム系薬もその要因となるのか否かを検討するために CMNX および他  $\beta$ -ラクタム系薬の MRSA PBP-2' 誘導能と耐性化との関係について他の  $\beta$ -ラクタム系薬と比較検討したので報告す

る。

## I. 材料と方法

### 1. 菌 株

1991 年 8 月から 1992 年 5 月までに、MRSA 感染症と診断された患者から分離された黄色ブドウ球菌を用いた。

### 2. 使用薬剤

Cefminox (CMNX, 明治製菓株式会社), ceftizoxime (CZX, 藤沢薬品工業株式会社), flomoxef (FMOX, 塩野義製薬株式会社), imipenem/cilastatin (IPM/CS, 萬有製薬株式会社) のいずれも力価の明らかなものを用いた。

### 3. 感受性測定法

薬剤感受性測定は日本化学療法学会標準法<sup>10)</sup>により行った。すなわち、増菌用培地に Mueller Hinton broth (MHB, BBL) を用い、感受性測定用培地として Mueller Hinton agar (MHA, BBL) を用いた。ま

た、接種菌液は増菌用培地で 32℃、18~20 時間培養後、同培地で 100 倍に希釈したものとした。菌液の接種はマイクロプランター（佐久間製作所）で行い、32℃、18 時間培養後に MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) を求めた。

#### 4. 高度耐性菌の選択頻度

試験菌を MHB で 32℃、一夜静置培養後、さらに、この菌液を 3 時間振盪培養した。この菌液 0.1 ml を薬剤含有（各薬剤の 4 および 8 MIC）の MHA 平板上にコンラージ棒にて塗抹し、32℃、48 時間培養した。発育したコロニーを数え、接種菌数に対する割合を高度耐性菌の選択頻度とした。また、各薬剤の 50  $\mu\text{g/ml}$  を含む平板上に発育したコロニーを無作為に 10 コロニー選択し、各種  $\beta$ -ラクタム系薬に対する MIC を測定した。

#### 5. 各種 $\beta$ -ラクタム系薬作用による PBP-2' の測定

誘導型 MRSA Y-112 を L-broth で一夜培養し、この菌液を同液体培地 190 ml に 10 ml 接種し、3 時間振盪培養した。この菌液に薬剤を 10 および 1  $\mu\text{g/ml}$  となるように添加した後、さらに 6 時間振盪培養した。その後、この菌を新鮮な L-broth に 1 代継代し薬剤を除去した菌体もあわせて得た。PBP の測定は Spratt<sup>11)</sup> の方法に準じ [<sup>14</sup>C] Benzylpenicillin Potassium ([<sup>14</sup>C] PCG: Amersham) との結合実験から検討した。すなわち、薬剤を作用させた菌細胞と薬剤を除去した菌細胞をそれぞれ冷却遠心で集め、10 mM の  $\text{MgCl}_2$  を含有した 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) で洗浄し、同液 8 ml に浮遊した。超音波破砕器 (Astrason Ultrasonic Processor) で氷冷しながら超音波破砕し、その 7,000 $\times g$  15 分遠心上清を 100,000 $\times g$  30 分超遠心を行い膜画分を集めた。同緩衝液で 1 回洗浄後、少量の同緩衝液に溶解し Lowry 法で蛋白量を 15 mg/ml となるように調整した。この膜画分 30  $\mu\text{l}$  に 4  $\mu\text{l}$  の [<sup>14</sup>C]

PCG 液を加え、30℃、10 分間反応させた後、20 % w/v の sarkocyl と 60 mg/ml の PCG との等量混合液を 4  $\mu\text{l}$  加え反応を停止した。この反応液から sarkocyl 不溶画分を 10,000 $\times g$  30 分の遠心で除き、上清全量と 15  $\mu\text{l}$  の SDS 緩衝液および 5  $\mu\text{l}$  の  $\beta$ -mercaptoethanol を混合し、沸騰水中で 2 分間煮沸した。その全量を 10 % ポリアクリルアミド平板ゲルに乗せ 90 V で等電圧電気泳動を行った。電気泳動終了後、ゲル上の蛋白を 7 % 酢酸、50 % メタノール混液で固定し、DMSO で置換し、2, 5-diphenyloxazole を浸み込ませ 1 時間流水で水洗後乾燥し、X 線フィルムに密着し -80℃ で 20 日間感光させた。

## II. 結 果

### 1. 薬剤感受性

各薬剤の感受性分布を Fig. 1 に示した。CMNX および CZX の常用投与量 (1 g, 点滴静注) における血中ピーク濃度はそれぞれ 100.6  $\mu\text{g/ml}$ , 67.4  $\mu\text{g/ml}$  であったが、CMNX および CZX はこの濃度域では MRSA に対し、まったく抗菌力を示さなかった。一方 FMOX および IPM/CS の血中ピーク濃度は CMNX および CZX の約 1/2 であったが、FMOX では 7 % の株に、IPM/CS では 20 % の株に抗菌力が認められた。

### 2. CMNX および他 $\beta$ -ラクタム系薬による高度耐性菌の選択頻度

MRSA Y-782 および Y-112 の各薬剤に対する高度耐性菌の選択頻度を Tables 1, 2 に示した。MRSA Y-782 に対する CMNX および CZX の MIC はそれぞれ 400, 1,600  $\mu\text{g/ml}$  と高かったが、FMOX および IPM/CS においてはそれぞれ 12.5  $\mu\text{g/ml}$ , 1.56  $\mu\text{g/ml}$  であった。この菌株に対する高度耐性菌の選択頻度は、本菌に対し抗菌力の弱い CMNX および CZX においては 8 MIC 濃度作用でいずれも  $3.5 \times 10^{-8}$  より低かった。これに対

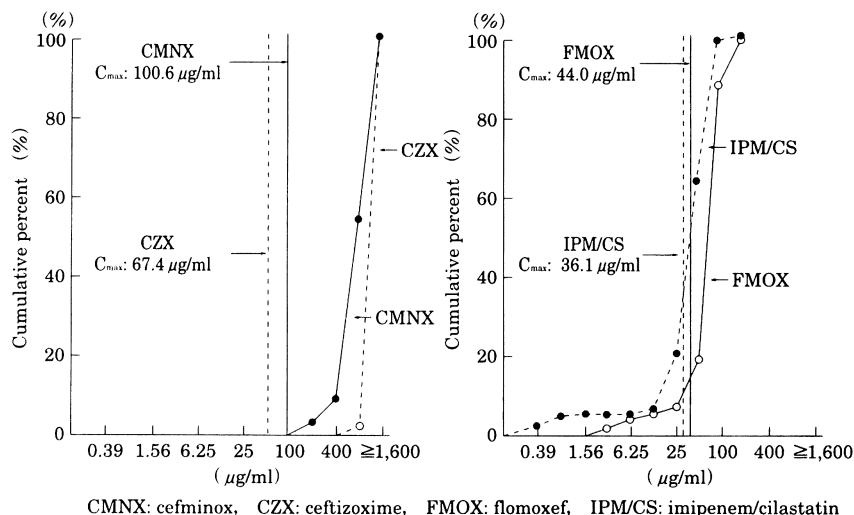


Fig. 1. Susceptibility distribution of clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to cefminox and other  $\beta$ -lactam antibiotics (100 strains).

Table 1. Frequency of spontaneous mutants resistant to cefminox and other  $\beta$ -lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Y-782

| Organism   | Drug                | Selective concentration* | Frequency             | MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|------------|---------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|
| MRSA Y-782 | cefminox            | 8 MIC (3,200)            | $<3.5 \times 10^{-8}$ | 400                      |
|            |                     | 4 MIC (1,600)            | $2.6 \times 10^{-6}$  |                          |
|            | flomoxef            | 8 MIC (100)              | $1.4 \times 10^{-5}$  | 12.5                     |
|            |                     | 4 MIC (50)               | $6.3 \times 10^{-5}$  |                          |
|            | ceftizoxime         | 8 MIC (12,800)           | $<3.5 \times 10^{-8}$ | 1,600                    |
|            |                     | 4 MIC (6,400)            | $1.0 \times 10^{-6}$  |                          |
|            | imipenem/cilastatin | 8 MIC (12.5)             | $7.1 \times 10^{-3}$  | 1.56                     |
|            |                     | 4 MIC (6.25)             | $2.2 \times 10^{-3}$  |                          |

\*  $\mu\text{g/ml}$

Table 2. Frequency of spontaneous mutants resistant to cefminox and other  $\beta$ -lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Y-112

| Organism   | Drug                | Selective concentration* | Frequency             | MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|------------|---------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|
| MRSA Y-112 | cefminox            | 8 MIC (6,400)            | $<6.2 \times 10^{-8}$ | 800                      |
|            |                     | 4 MIC (3,200)            | $<6.2 \times 10^{-8}$ |                          |
|            | flomoxef            | 8 MIC (800)              | $<6.2 \times 10^{-8}$ | 100                      |
|            |                     | 4 MIC (400)              | $<6.2 \times 10^{-8}$ |                          |
|            | ceftizoxime         | 8 MIC (12,800)           | $3.4 \times 10^{-7}$  | 1,600                    |
|            |                     | 4 MIC (6,400)            | $4.7 \times 10^{-6}$  |                          |
|            | imipenem/cilastatin | 8 MIC (800)              | $3.9 \times 10^{-6}$  | 100                      |
|            |                     | 4 MIC (400)              | $1.0 \times 10^{-5}$  |                          |

\*  $\mu\text{g/ml}$

して、FMOX および IPM/CS は本菌に抗菌力を示し、8 MIC 濃度の薬剤を作用させることにより高度耐性菌はそれぞれ  $1.4 \times 10^{-5}$ ,  $7.1 \times 10^{-3}$  の頻度で選択された。また、4 MIC 濃度作用においても同様の傾向が認められた。

一方、MRSA Y-112 に対する CMNX, CZX, FMOX および IPM/CS の MIC はそれぞれ 800, 1,600, 100 および  $100 \mu\text{g/ml}$  であった。このように各薬剤に感受性の低い菌に対しては、FMOX および IPM/CS の高度耐性変異株の選択頻度も低く、FMOX は 8 MIC 濃度作用で  $6.2 \times 10^{-8}$  より低かった。また、IPM/CS では  $3.9 \times 10^{-6}$  であった。

### 3. 薬剤接触後の感受性の変化

各薬剤の血中濃度を考慮して設定した濃度を含む薬剤平板に出現したコロニーを無作為に 10 個選び、その MIC を測定した。

$50 \mu\text{g/ml}$  の CMNX または CZX 処理により CMNX および他  $\beta$ -ラクタム系薬の MIC に変化は認められなかったが、FMOX 処理により出現した耐性菌では MIC が FMOX に対し元株の 4 倍に上昇した株が 6 株、8 倍に上昇した株が 1 株であり、これらの菌株は他  $\beta$ -ラク

タム系薬に対する MIC も上昇していた。また、IPM/CS 処理においては IPM/CS に対し高度耐性となり、すべての株が元株に比べ 16~32 倍の MIC を示し、これらの菌株は FMOX と同様に他  $\beta$ -ラクタム系薬に対しても高い MIC を示した (Table 3)。

### 4. MRSA に対する各種薬剤の PBP-2' 誘導能

各種  $\beta$ -ラクタム系薬によって誘導された MRSA Y-112 の PBP-2' の産生量を Fig. 2 に、また、薬剤を除去した時の PBP-2' の産生量を Fig. 3 に示した。PBP パターンから明らかなように各  $\beta$ -ラクタム系薬は 10 および  $1 \mu\text{g/ml}$  存在下で PBP-2' を誘導した。このパターンから非誘導時のそれと比べ相対産生量を求めると、CMNX, FMOX および IPM/CS の  $10 \mu\text{g/ml}$  存在下では 4.50~5.07 倍、 $1 \mu\text{g/ml}$  存在下では 4.60~5.02 倍に PBP-2' の産生量がそれぞれ増加していた。

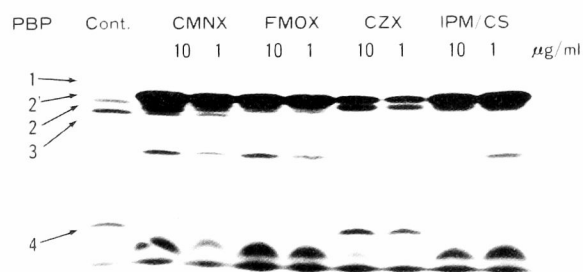
一方、CZX により誘導された PBP-2' 量は非誘導時のそれに比べ、 $10 \mu\text{g/ml}$  では 3.12 倍、 $1 \mu\text{g/ml}$  では 3.09 倍であり、CMNX, FMOX および IPM/CS に比較すると PBP-2' の誘導産生量は少なかった。また、これら薬剤処理後の MRSA Y-112 株を 1 代継代すると PBP-2' の産生量は速やかに減少し非誘導時と同様の産

Table 3. Antibacterial activities against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Y-782 growing on agar plates containing various  $\beta$ -lactam

selective concentration: 50  $\mu$ g/ml

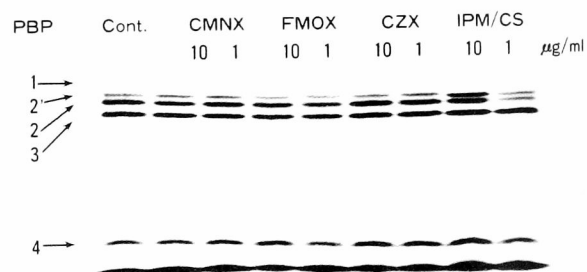
| Selective drug          | Tested drug             | Increased degree of MIC <sup>1)</sup> |      |      |      |      |      |
|-------------------------|-------------------------|---------------------------------------|------|------|------|------|------|
|                         |                         | 1                                     | 2    | 4    | 8    | 16   | 32   |
| Cefminox                | cefminox                | 10/10 <sup>2)</sup>                   |      |      |      |      |      |
|                         | flomoxef                | 10/10                                 |      |      |      |      |      |
|                         | ceftizoxime             | 10/10                                 |      |      |      |      |      |
|                         | imipenem/<br>cilastatin | 10/10                                 |      |      |      |      |      |
|                         |                         |                                       |      |      |      |      |      |
| Ceftizoxime             | ceftizoxime             | 10/10                                 |      |      |      |      |      |
|                         | cefminox                | 10/10                                 |      |      |      |      |      |
|                         | flomoxef                | 10/10                                 |      |      |      |      |      |
|                         | imipenem/<br>cilastatin | 10/10                                 |      |      |      |      |      |
|                         |                         |                                       |      |      |      |      |      |
| Flomoxef                | flomoxef                |                                       | 3/10 | 6/10 | 1/10 |      |      |
|                         | cefminox                | 1/10                                  | 7/10 | 2/10 |      |      |      |
|                         | ceftizoxime             | 9/10                                  | 1/10 |      |      |      |      |
|                         | imipenem/<br>cilastatin |                                       |      |      | 4/10 | 6/10 |      |
|                         |                         |                                       |      |      |      |      |      |
| Imipenem/<br>cilastatin | imipenem/<br>cilastatin |                                       |      |      |      | 7/10 | 3/10 |
|                         | cefminox                | 1/10                                  | 7/10 | 2/10 |      |      |      |
|                         | flomoxef                |                                       |      | 8/10 | 2/10 |      |      |
|                         | ceftizoxime             | 10/10                                 |      |      |      |      |      |
|                         |                         |                                       |      |      |      |      |      |

<sup>1)</sup> time, <sup>2)</sup> No of applicable strains/No of strains tested



| Drug                | Concentration ( $\mu$ g/ml) | PBP-2' |
|---------------------|-----------------------------|--------|
| Cefminox            | 10                          | 5.07   |
|                     | 1                           | 4.60   |
| Flomoxef            | 10                          | 4.72   |
|                     | 1                           | 5.02   |
| Ceftizoxime         | 10                          | 3.12   |
|                     | 1                           | 3.09   |
| Imipenem/cilastatin | 10                          | 4.50   |
|                     | 1                           | 5.01   |
| Control             | 0                           | 1.00   |

Fig. 2. Fautorography (upper) and density (lower) of penicillin-binding proteins in growing cells of MRSA Y-112 treated with  $\beta$ -lactam antibiotics.



| Drug                | Concentration ( $\mu$ g/ml) | PBP-2' |
|---------------------|-----------------------------|--------|
| Cefminox            | 10                          | 0.96   |
|                     | 1                           | 0.99   |
| Flomoxef            | 10                          | 1.00   |
|                     | 1                           | 0.88   |
| Ceftizoxime         | 10                          | 1.02   |
|                     | 1                           | 1.05   |
| Imipenem/cilastatin | 10                          | 1.22   |
|                     | 1                           | 0.74   |
| Control             | 0                           | 1.00   |

Fig. 3. Fautorography (upper) and density (lower) of penicillin-binding proteins in growing cells of MRSA Y-112 without  $\beta$ -lactam antibiotic treatment.

生量になった。

### III. 考 察

MRSA は多剤に対し加速度的に高度耐性化しており、院内感染や日和見感染症の起因菌として問題視されている。しかし、MRSA は複数菌感染として分離されることも多いことから<sup>12)</sup>、MRSA が感染症の主因である可能性は予想以上に低いものとも考えられる。一方、MRSA の増加はブドウ球菌に抗菌力の弱い薬剤を汎用したことがその一因と言われており<sup>13)</sup>、今回著者らは CMNX および他  $\beta$ -ラクタム系薬の MRSA PBP-2' 誘導能と耐性化について検討を行い、MRSA 増加との関係について考察を加えた。

CMNX および CZX はブドウ球菌に適応を持たない第三世代セフェム系薬剤であるが、臨床上、ブドウ球菌以外の感染症の治療および術後感染予防等に幅広く使用されている薬剤であり、治療中に MRSA が混合感染菌として認められた場合に MRSA の高度耐性化にかなりの影響をおよぼすかが問題となる。今回の検討において、CMNX および CZX は臨床分離 MRSA に対し、ヒト常用投与量で得られる血中濃度域ではまったく抗菌力を示さなかったが、FMOX および IPM/CS は開発初期<sup>14,15)</sup>より耐性化が進んでいるものの、それぞれ 7%、20% の株に抗菌力を示した。また、薬剤含有平板上での高度耐性菌選択頻度を比較した結果、MIC の高い MRSA Y-112 に対してはいずれの薬剤も高度耐性菌を選択しなかったが、MRSA Y-782 に対して CMNX および CZX はヒト常用投与量で得られる血中濃度域では抗菌力を示す株はなく、高度耐性変異株の選択率も低かった。一方、FMOX および IPM/CS のように MRSA Y-782 に抗菌力を示す薬剤では、薬剤含有平板上での高度耐性変異株の選択頻度は高く、得られた高度耐性株は他  $\beta$ -ラクタム系薬に対しても交差耐性を示していた。

MRSA PBP-2' 誘導能に関して、生方らはセフェム系薬は MRSA PBP-2' を誘導するが、なかでも FMOX は誘導能が低いと報告している<sup>16)</sup>。しかし、今回著者らの実験では、FMOX も含めすべての薬剤が MRSA PBP-2' を良く誘導した。これは生方らの用いた菌株は FMOX に対し MIC が低かったのに対し、著者らの用いた菌株では FMOX の MIC が 100  $\mu$ g/ml と高かったことに起因すると考えられた。また、 $\beta$ -ラクタム系薬によって誘導された MRSA PBP-2' は薬剤を除去すると誘導前の PBP-2' 産生量に減少することから、 $\beta$ -ラクタム系薬による MRSA PBP-2' の誘導は MRSA の高度耐性化とは高い相関関係が得られなかった。以上のことから MRSA PBP-2' の産生誘導と高度耐性化とは関係がなく、常用投与量で得られる血中濃度域では抗菌力を示さない CMNX および CZX は高度耐性 MRSA を選択せず、むしろ IPM/CS や FMOX のように一部の

MRSA に抗菌力を示す薬剤の使用により高度耐性菌が選択される可能性が高く、臨床使用にあたっては注意が必要と考えられた。

### 文 献

- 1) 島田 馨, 安達桂子, 田中喜久子, 上条仁子, 佐々木宗男, 畠山 勤, 稲松孝思, 浦山京子: セフェム系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
- 2) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 渡辺貴和雄, 永武毅, 力富直人, 高橋 淳, 鈴木 寛: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌。第一報  $\beta$ -ラクタム剤感受性について。Chemotherapy 32: 344~353, 1984
- 3) Ubukata K, Yamashita N, Konno M: Occurrence of a  $\beta$ -lactam inducible penicillin-binding protein in methicillin-resistant staphylococci, Antimicrob Agent Chemother 27: 851~857, 1985
- 4) Georgopapadakou N H, Smith S A, Bonner P P: Penicillin-binding proteins in a staphylococcus aureus strain resistant to specific  $\beta$ -lactam antibiotics, Antimicrob Agent Chemother 22: 172~175, 1982
- 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, 野の口律子: 薬剤耐性とファージ型からみたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌について。感染症学雑誌 59: 1029~1040, 1985
- 6) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 渡辺貴和雄, 永武毅, 力富直人, 高橋 淳, 鈴木 寛: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌 第 1 報  $\beta$ -lactam 剤感受性について。Chemotherapy 32: 344~353, 1984
- 7) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 渡辺貴和雄, 永武毅, 力富直人, 高橋 淳, 鈴木 寛: 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  $\beta$ -lactam 剤以外の抗生物質感受性及び多剤耐性菌の現況と治療への考察について。Chemotherapy 32: 517~526, 1984
- 8) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 渡辺貴和雄, 永武毅, 力富直人, 高橋 淳, 鈴木 寛: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌 第 3 報 コアグラマーゼ型の分類における検体別, 地方別, 施設別検討及び薬剤感受性。Chemotherapy 32: 527~533, 1984
- 9) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 渡辺貴和雄, 永武毅, 力富直人, 高橋 淳, 鈴木 寛: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌 第 4 報 4 年間の薬剤感受性と Coagulase 型別の変化。Chemotherapy 37: 547~562, 1989
- 10) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改定について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 11) Spratt B G: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K12. Proc. Nat. Acad. Sci USA 72: 2999~3003, 1975
- 12) 井田孝志, 野々山勝人, 長曾部紀子, 島内千恵子, 井上松久, 岡本了一: 近年分離された MRSA に関する全国的疫学調査。Jap. J. Antibiotics 47: 585~594, 1994
- 13) 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  $\beta$ -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）プログラム抄録: 159, 1990
- 14) 横田 健, 丸山映子, 鈴木映子, 新井京子, 加藤尚代: Imipenem (MK-0787) の試験管内抗菌力,  $\beta$ -lactamase 不活化作用, ペニシリン結合蛋白親和性及びマウスの脳と腎ホモジネートに対する安定性。Chemotherapy 33: 43~53, 1985
- 15) 横田 健, 鈴木映子, 新井京子, 加藤尚代: 新しい oxacephem, 6315-S (Flomoxef) の試験管内抗菌力,  $\beta$ -lactamase 安定性, 作用点ペニシリン結合蛋白 (PBP) に対する安定性, および血清補体と白血球との協力的食菌・殺菌作用。Chemotherapy 35: 33~43, 1987
- 16) 生方公子: MRSA 感染症のすべて, MRSA の耐性機構, PBP-2' と誘導耐性。78~109, 医薬ジャーナル社, 東京・大阪, 1991

## Relationship between Penicillin-binding proteins (PBPs) induction and $\beta$ -lactam antibiotics resistance on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

—Comparison with cefminox and other  $\beta$ -lactam antibiotics—

Takahiro Ishii<sup>1,2)</sup>, Michio Sasajima<sup>1)</sup>, Akiko Gyoubu<sup>1)</sup>  
and Yoshinori Orikasa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Meiji-Seika Kaisha, LTD., Pharmaceutical Research Center and <sup>2)</sup> Kitasato University, School of Medicine, Department of Microbiology

Resistance of *Staphylococcus aureus* to methicillin (MRSA) is a serious clinical problem. In this paper, the relationship between the induction of penicillin binding protein (PBP-2') and selection of highly-resistant MRSA by cefminox (CMNX) and other  $\beta$ -lactam compounds.

1. CMNX and ceftizoxime (CZX) did not have any bactericidal activity against 100 MRSA strains in physiological concentrations. However, flomoxef (FMOX) and imipenem/cilastatin (IPM/CS) showed good antibacterial activity against 7% and 20% of MRSA strains, respectively.

2. The frequency of MRSA Y-782 strains against resistant to  $\beta$ -lactam compounds was high in IPM/CS and FMOX-treated cultures, antibiotics, which showed good bactericidal effects against MRSA Y-782. In contrast, the frequency of MRSA Y-112 resistant strains was low in IPM/CS and FMOX-treated cultures which had no effects on MRSA Y-112 bacteria.

3. The MIC of CMNX and CZX did not change when  $\beta$ -lactam compounds were applied to MRSA Y-782 strains at physiological concentrations. However, the MIC increased by up to 32-fold time in the case of FMOX and IPM/CS with some strains.

4. CMNX induced PBP-2' just like other  $\beta$ -lactam compounds when MRSA Y-112 strains were cultured in the presence of low drug concentrations. However, when this bacteria was returned to non-drug containing medium, the amount of PBP-2' decreased, showing a similar PBP pattern to that before the drug was added.